



CITOLOGIA E HISTOLOGIA

ALTERACIONES ULTRAESTRUCTURALES Y  
ACCIÓN TÓXICA DE LA GENTAMICINA EN  
EL RIÑÓN DE RATA.

AUTOR: Rafael Cobo López

DIRECTORES: José Luis López-Campos Bodineau

Hugo Galera Davidson

Joaquín Piñero Bustamante

1 de Enero de 1981



C/41

D. JOSE LUIS LOPEZ-CAMPOS, Jefe del Departamento y  
Catedrático de Citología e Histología de la Facultad de Biología  
de Sevilla

D. HUGO GALERA DAVIDSON, Jefe del Departamento y  
Catedrático de Histología y Anatomía Patológica de la Facultad de  
Medicina de Sevilla

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado " Alteraciones ultraestructurales  
y acción tóxica de la gentamicina en el riñón de rata ", presentado  
por D. Rafael Cobo López para optar al grado de Doctor, se ha rea-  
lizado bajo nuestra dirección y con la codirección del Dr. D. Joaquín  
Piñero Bustamante, y que reúne todas las condiciones necesarias  
para su presentación.

DIRECTOR

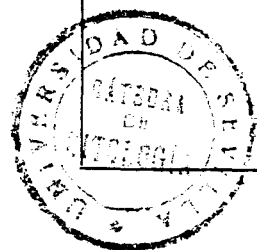
Prof. J. L. LOPEZ-CAMPOS

DIRECTOR Y PONENTE

Prof. H. GALERA DAVIDSON

CODIRECTOR

Dr. J. PIÑERO BUSTAMANTE





R. 6.736



Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todos, de alguna manera, han colaborado en la elaboración de este trabajo, especialmente al Prof. Dr. D. José Luis Lopez-Campos, que no escatimó tiempo ni trabajo y que en todo momento me aconsejó dandome las directrices para llevar a cabo este trabajo.

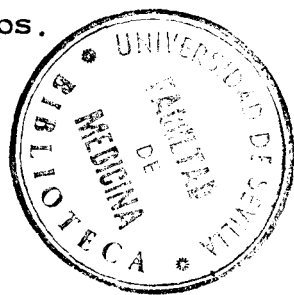
Al Prof. Dr. D. Hugo Galera Davidson, por su acertada dirección y consejo.

Al Dr. D. Joaquín Piñero Bustamante, codirector de esta Tesis y buen amigo, sin cuya desinteresada colaboración no hubiera llegado a buen fin este trabajo.

Igualmente agradezco toda la ayuda prestada, experimental y en la valoración de datos clínicos y estadísticos, a los Drs. Aznar Lopez y Carvajal del Instituto de Investigaciones Médicas Boheringer Sohn de Barcelona.

Así mismo, a todos mis compañeros del Departamento de Citología e Histología de la Facultad de Biología de Sevilla, especialmente a Remedios Garcia Navarro por su colaboración técnica.

A todos mis más sinceros agradecimientos.



A mis padres,

A mi esposa y  
mis hijos

## INDICE

	Pags.
I.- INTRODUCCION .....	1
I.I.- Generalidades .....	2
I.II.- Aspectos tóxicos de la gentamicina y otros aminoglucósidos .....	9
I.III.- Patología mitocondrial por acción de los aminoglucósidos .....	20
I.IV.- Hipertrofia vicariante .....	28
II.- MATERIAL Y METODOS .....	35
III.- RESULTADOS .....	48
III.I.- Resultados clínicos, bioquímicos y estudio estadístico .....	49
III.I.1.- Valoración estadística .....	129
III.II.- Resultados morfológicos .....	140
III.II.1.- Animales tratados con máximas do- sis de gentamicina, nefrectomizados ..	141
III.II.2.- Animales tratados con mínimas dosis de gentamicina, nefrectomizados ....	154
III.II.3.- Animales tratados con máximas dosis de gentamicina, no nefrectomizados ..	159
III.II.4.- Animales tratados con minimas dosis de gentamicina, no nefrectomizados ..	163

IV.- ICONOGRAFIA .....	167
V.- DISCUSION .....	168
VI.- CONCLUSIONES .....	190
VII.- BIBLIOGRAFIA .....	194

## I. - INTRODUCCION

## I.1. - GENERALIDADES

Mucho se ha escrito sobre la extraordinaria aportación de los antibióticos a la medicina, sin embargo, y dejando a un lado sus aspectos beneficiosos, desde hace ya algún tiempo, se viene investigando sobre sus efectos nocivos.

Se ha dicho que los efectos indeseables son debidos, en suma, a dos causas, o bien a fenómenos de hipersensibilidad o bien a su acción tóxica directa, independientemente de su actividad antibacteriana, todo ello sin olvidar los efectos secundarios ligados a la actividad antibiótica, cual es el caso de la reacción de Herxheimer y las superinfecciones (SABALLS-1980) (154).

Por otro lado, y para el médico general, ante cualquier proceso infeccioso de cualquier origen, la aplicación de antibióticos puede, cuando el germen es sensible a ellos, facilitar curaciones en poco tiempo.

Con el descubrimiento de antibacterianos potentes, predominó la equivocada impresión de que estas enfermedades, forma



ban parte del pasado. Como refiere ROBBINS (1975) (149), se decía jocosamente; "cuando un paciente tiene fiebre, dele penicilina, y si no se ha restablecido en dos días, examínelo".

Todos sabemos, que cualquier fármaco quimioterápico tiene unos límites de utilidad, un espectro antibacteriano y una mayor eficacia con unos agentes que con otros.

Igualmente, ROBBINS (1975) (149) considera que es --- más importante que nunca establecer un diagnóstico microbiológico preciso de las enfermedades, aunque solo sea para instaurar un tratamiento eficaz. Hoy en día, por ejemplo, sabemos que entre los - microorganismos entéricos, hay una gran variedad de bacilos Gram (-), que guardan cierta relación morfológica entre sí, pero que en el laboratorio, el especialista, separa por pruebas bioquímicas y - serológicas.

Por otra parte, las infecciones por Gram (-), se han - convertido en formas resistentes graves de infección vías urinarias, pielonefritis, peritonitis y post-operatorios. En aquellos pacientes, a los cuales se aplican antibióticos de amplio espectro en el curso post-operatorio se destruyen las cepas susceptibles, y se aumenta - el riesgo de la proliferación ilimitada de gérmenes Gram (-) (ROBBINS-1975) (149).

Un nuevo aspecto, añadido en la última década, en la medicina práctica es la llamada A.D.R. (adverse drug reaction) o reacción adversa del organismo frente a un fármaco. Este problema

se planteó, a raíz de la introducción en la práctica médica, de multiples fármacos con gran actividad.

En general, se considera, que para que una droga origine un cuadro de A.D.R., hay que tener en cuenta, no solamente la acción farmacológica propia de tal sustancia sino tambien, y además, otras circunstancias tales como la edad, el peso, etc... - (IREY-1976) (76). Dentro de las sustancias que con mayor frecuencia provocan cuadros de A.D.R. se encuentran los citotáticos, los antiinflamatorios y gran cantidad de antibióticos.

Desde el punto de vista histológico, se considera que un cuadro de A.D.R. puede llegar a producir cambios degenerativos y necrosis en diversos lugares anatómicos, y de forma especial en aquellos en donde los mecanismos de absorción, metabolismo, almacenamiento y excreción, juegan un importante papel cuales son el tracto gastrointestinal, el hígado o el riñón.

Algunas sustancias farmacológicas, bien "per se", bien en combinación con proteínas del organismo, pueden inducir la formación de anticuerpos, originando no ya cuadros de A.D.R. sino reacciones de hipersensibilidad.

No se puede olvidar, que estos cuadros, de reacción adversa y de hipersensibilidad, conforman un aspecto de suma importancia en la medicina actual, y que por otra parte drogas y fármacos actuando sobre determinados tejidos u órganos "target", pueden

dar lugar a alteraciones congénitas, anomalías en el desarrollo, tu mores, fenómenos de hiperplasia, hipoplasia o aplasia, cuadros in flamatorios, alteraciones vasculares y cambios funcionales sin ex presión morfológica. Como consecuencia de todo ello, el aspecto clínico patológico que origina múltiples drogas puede inducir a con fusión con procesos patológicos cuyo origen no es yatrogénico. Es decir, que aunque muchas sustancias farmacológicas, pueden provo car entidades nosológicas que deben ser conocidas por el médico, pueden no tener ningún hecho distintivo, característico o patognomó nico que reconociendolo puede inducir a pensar en su origen yatro génico. Este dato nos hace pensar en los límites de la capacidad - biológica para reaccionar a la lesión, de tal forma que por diferen tes sustancias, se originan cuadros clínicos semejantes. Ello sig nifica que el reconocimiento, la identificación y el posterior diag nóstico de un cuadro de A.D.R., es un problema de diagnóstico di ferencial de suma importancia.

Los principios básicos utilizados para el diagnóstico de un cuadro de A.D.R., son los mismos que se utilizan en cualquier área de la medicina que, en suma, son los signos y síntomas, es de cir, la clínica, y los datos de laboratorio, incluyendo los hallazgos morfológicos.

Hoy día, las técnicas médicas de investigación han to mado un considerable aumento, en su capacidad de aportar informa ción y en el desarrollo de métodos toxicológicos de laboratorio. El número y sofisticación de instrumentos y técnicas ha sufrido un es pectacular aumento, y muchos de estos métodos son utilizados en el

diagnóstico de cuadros de A.D.R., como por ejemplo, autoanalizadores de múltiples canales, espectrofotometría, análisis cromatográficos, técnicas inmunológicas y tinciones histoquímicas especiales, por mencionar solo algunas.

Aunque la historia clínica y los datos de laboratorio son de fundamental importancia para el establecimiento de un diagnóstico, pensamos que de igual importancia es la metodología o el plan analítico adoptado por el médico, para entender y sintetizar los últimos datos que le son aportados para tratar de diagnosticar una acción yatrogénica.

Es importante insistir en que la utilización de nuevos fármacos crea, en suma, tres aspectos importantes, cuales son, - por un lado, problemas diagnósticos que se han añadido a la moderna medicina práctica, como es la reacción adversa del organismo frente a diversos fármacos.

Por último, hay que tener en cuenta, que los cuadros de A.D.R. deben ser incluidos en el diagnóstico diferencial de procesos infecciosos, metabólicos, y otros bien establecidos en la patología humana, y por último, que en muchas ocasiones, el aspecto clínico patológico de cuadros de A.D.R., no es fácilmente distinguible de otro proceso o entidad nosológica de distinto origen.

Es importante, como considera KARCH (1974) (84), que el problema fundamental es saber conocer una situación clínica individual originada por un cuadro de A.D.R., y establecer una clara

relación causa-efecto entre la droga y la reacción.

I.II.- ASPECTOS TOXICOS DE LA GENTAMICINA  
Y OTROS AMINOGLUCOSIDOS

Una gran cantidad de trabajos se han publicado, demostrando la acción nefrotóxica de la gentamicina (KAHN-1972) (83); en pacientes que han recibido gentamicina y cefaloridina asociados se ha encontrado el mayor número de complicaciones renales (BOBROW 1972) (14).

La gentamicina constituye actualmente el antibiótico de elección en gran número de infecciones especialmente las provocadas por microorganismos Gram (-). Desde el comienzo de su utilización clínica, al igual que ha ocurrido con otros antibióticos de amplio espectro, se han descrito reacciones adversas de diferentes clases, destacando las ototóxicas (JAO-1964; SHIMIZU-1967) (80, 160).

Los efectos nefrotóxicos de la gentamicina, demostrados en el animal de experimentación (FLANDRE-1967) (52) se manifiestan por la aparición de proteinuria, cilindruria y piuria (FILLASTRE-1969) (50) e insuficiencia renal (KAHN-1972) (83), habiéndose descrito recientemente la aparición de fracaso renal agudo en rela-

ción con el uso de gentamicina asociada a cefalosporina (KLEINK-NECHT-1973) (93).

RUILOPEZ (1974) (153) ha estudiado la experiencia recogida en pacientes tratados con gentamicina cuantificando las variaciones originadas en la función renal global, el sedimento, la eliminación de proteínas por la orina correlacionando éstas con los niveles plasmáticos obtenidos y con la administración constante e intermitente del antibiótico. Estos estudios han confirmado la aparición en el tratamiento con gentamicina de proteinuria, piuria y cilindruria en un porcentaje de 40 y 80% de los pacientes. Según este autor, estas alteraciones son poco importantes e independiente de que los niveles de antibióticos en sangre sean constantes o intermitentes y no contraindican en nuestra opinión, su utilización clínica.

Por otro lado, se considera (RUILOPEZ-1974) (153) que si se mantienen niveles altos de antibiótico en sangre pueden aparecer cuadros de hematurias e insuficiencia renal y por otra parte, también considera este autor que existe un espectro correlativo entre la droga y la dosis utilizada. El abuso de la gentamicina provocó, en algunos enfermos estudiados, un cuadro de insuficiencia renal similar a la descrita por KAHN (1972) (83), con aumento de la tasa plasmática de creatinina y urea, sin descenso de la diuresis y con proteinuria poco importante.

Por otro lado, un antibiótico de reciente aparición en la clínica es la amicacina, que pertenece al grupo de los aminoglucósidos. Este antibiótico es un derivado semisintético de la kanamicina



y tiene un espectro similar al de la gentamicina (REYNOLDS-1974) (144), aunque tiene una menor susceptibilidad a la degradación enzimática y solamente es inactivado por la kanamicin-acetil-transferasa.

Se cree que la gentamicina actúa como sustrato de cinco enzimas (PRICE-1974; CLARK-1974) (138, 18) y se considera - que la amicacina y la karnamicina son farmacológicamente idénticos y que una alta concentración en plasma de estos antibióticos es mejor tolerado, en su aspecto tóxico que la gentamicina.

Los fallos renales por acción de la terapia con gentamicina y otros aminoglucósidos, están demostrados y este problema ha estimulado el desarrollo de sustancias semisintéticas análogas a la gentamicina, que poseen poder antimicrobiano casi equivalente y con menor efecto tóxico (WRIGHT-1975) (198). Aportaciones recientes, han indicado que uno de estos aminoglucósidos, cual es la netilmicina, demuestran que tienen mayor capacidad antimicrobiana que la propia gentamicina (MILLER-1976; RAHAL-1976) (120, 140) y por otro lado, según LUFT (1974-75) (105, 106), esta sustancia es menos tóxica, y en especial nefrotóxica, que la gentamicina.

Así por ejemplo, se ha sugerido, que la acción nefrotóxica de la gentamicina está en relación con la concentración del antibiótico en la corteza renal (DELLINGER-1976; LUFT-1976) (34, 107). Sin embargo BOWMANN (1977) (15) ha visto que después de ocho días de inyectar en la cortical una dosis de 100 mg/Kg/día, la concentración de la gentamicina era menor que la de netilmicina.

También la aplicación de la gentamicina se ha estudiado en procesos articulares y se ha tratado de conocer la penetración en el líquido sinovial de agentes antimicrobianos (BACIOCCO-1971; NELSON-1971; PARKER-1971) (5, 124, 136), sin embargo, al revisar la bibliografía encontramos pocos datos a tener en cuenta, sobre la penetración de la gentamicina y de la tobramicina dentro del líquido articular (CHOU-1971; MARSH-1974) (30, 111). DEE (1977) (33) ha estudiado hace poco tiempo los niveles de gentamicina en pacientes con lesiones articulares no traumáticas, así como en otros con artritis reumatoides.

El conocimiento de la capacidad de penetración de los agentes antibacterianos dentro del líquido sinovial, es importante para adecuar un programa terapéutico en pacientes con artritis infecciosa. Así por ejemplo, NELSON (1971) (124) y PARKER (1971) - (136) han demostrado que excepto la eritromicina existe una buena penetración de los agentes antimicrobianos dentro del líquido sinovial. Por otro lado, BACIOCCO (1971) (5) demostró que la gentamicina tiene buena capacidad de penetración, y PRICE (1974) (138) y también MARSH (1974) (111) vieron que en los casos tratados de artritis infecciosas por gentamicina hay una buena capacidad de penetración.

La determinación en los cambios de la excreción de las enzimas renales, se ha considerado el método más sensible para determinar lesiones tubulares renales por la acción de determinados fármacos.

Este sistema de investigación enzimática ha sido también usado para determinar la acción de varios fármacos analgésicos y antirreumáticos incluyendo el acetyl salicílico y la fenacetina.

RAAB (1976) (139) ha estudiado las modificaciones enzimáticas en ratas después de la administración de gentamicina y cefaloridina, comparándolos sus efectos, que son de gran importancia para la patología humana. Este autor en sus trabajos, determinando la fosfatasa alcalina, la leucina aminopeptidasa y la láctico deshidrogenasa, de forma exclusivamente bioquímica, nos da un índice de su acción tóxica; y se considera que el aumento de la excreción de enzimas renales está relacionada con un signo patológico alterativo en las células renales, y concluye que la gentamicina y cefaloridina no se deben administrar juntas a pacientes con procesos renales.

El mecanismo mediante el cual estos antibióticos provocan un aumento de la actividad enzimática urinaria son varios, entre los cuales hay que destacar la exudación glomerular, necrosis tubular, alteración del ribete en cepillo.

Se piensa que la investigación del sedimento urinario o la determinación de isoenzimas en la orina puede ayudar a identificar los mecanismos patogénicos implicados en la excreción de enzimas.

Por otro lado, CHAUVIN (1978) (29) demostró que la inyección en ratas de 0.4 mg/Kg de peso de gentamicina, provoca un

aumento de esta sustancia en el parénquima renal y que si esta aplicación se hace durante semanas, el acúmulo de gentamicina aparece, fundamentalmente, en las células del tubo contorneado proximal mientras que en la médula renal la gentamicina aparece siempre en niveles más disminuidos.

Se ha visto que semanas después de la última inyección de gentamicina, los niveles urinarios de ella son todavía apreciables. Pero, sin embargo, muchas veces aunque haya aumento de gentamicina tubular, puede no expresarse por cambios morfológicos.

Como antes decíamos, la administración de grandes dosis de este antibiótico, ha demostrado su acción nefrotóxica en animales normales (GILBERT-1979) (55) y un aumento de ésta acción nefrotóxica en aquellos animales en los que, experimentalmente, se ha provocado una insuficiencia renal crónica (FLANDRE-1967) (52); esto es muy importante para poder establecer si es la acción nefrotóxica directa la que puede provocar esta, en relación con el proceso inflamatorio, o si la necrosis tubular aguda, que aparece bajo las grandes dosis de gentamicina se debe a la acción directa del fármaco (SENSI-1980) (162).

De todos es sabido que la gentamicina es un antibiótico del tipo de los aminoglicósidos, y se piensa que cuando se aplica a dosis mayores de 40mgs/Kg/día puede ejercer una acción tóxica directa (BLACK-1964; GILBERT-1979) (13, 55). Por otro lado se ha visto que la acción nefrotóxica aumenta en las ratas en las cuales se ha provocado una insuficiencia renal crónica, al someterlas a nefrec

tomia parcial (FLANDRE-1967) (52). Otros estudios, han indicado que la gentamicina se puede retener en pequeñas cantidades en la corteza renal y realizarse una excreción lenta (WALHIG-1973; - LUFT-1974; FABER-1976) (182, 105, 47).

Los estudios histológicos, han demostrado que la acción nefrotóxica está principalmente localizada a nivel del tubo contorneado proximal y que se va a expresar mediante mecanismos de necrosis. Esto ha postulado que las lesiones que aparecen tras la administración de grandes dosis de gentamicina, actúan sin duda de forma directa sobre el tubo contorneado proximal, lesionándolo y provocando la retención del antibiótico a ese nivel (FABER-1976; LUFT-1974; SENSI-1980; WALHIG-1973) (47, 105, 162, 182).

Se ha sugerido, que el aumento de la acción nefrotóxica tendría que ser mayor en enfermos en los que se sospecha una lesión del tubo contorneado proximal, como ocurre en las necrosis tubular aguda. Estas posibilidades han sido estudiadas en dos modelos experimentales, a los que se les ha provocado un fallo renal agudo nefrotóxico. Se ha visto que la aplicación de una dosis de 100 mg de gentamicina, por Kg y día, da un alto nivel en sangre de gentamicina y la presencia de lesión renal severa. En los animales que sobrevivieron a la aplicación de gentamicina, se originó una insuficiencia renal persistente, por ello se piensa que la agravación de la lesión renal en un fallo agudo puede deberse, sin duda, a la administración de la gentamicina, cuando ésta no se da en dosis apropiadas (MAWER-1974) (113).

Por otro lado, tambien se ha estudiado la acción de la gentamicina en fallos renales agudos provocados tras la administración de 8 y 10 mgs./Kg/día de cloruro de mercurio, y que esta acción se hace más intensa cuando se aplica simultaneamente gentamicina, además se ha sugerido (SENSI-1980) (162) que las lesiones neurológicas, son posiblemente consecuencia de la acción combinada del mercurio y de la gentamicina sobre el sistema nervioso central.

No hace mucho tiempo, HOUGHTON (1976) (72) estudió la acción nefrotóxica de otro aminoglicósido, denominado, en el mercado, "tobramicin", que es derivado del Estreptomices tenebrarius. Su espectro bacteriano es similar al de la gentamicina, excepto que es probable que sea más efectivo contra las infecciones por Pseudomonas aeruginosas (BROGDEN-1976; NEU-1976) (16, 125). La acción nefrotóxica de este antibiótico es comparable a la de la gentamicina en dosis equivalentes, en su aplicación clínica (BENDUSH-1976) (10) y se ha estudiado su acción tóxica experimentalmente - (WELLES-1973) (187). En estos estudios se ha comparado el cambio en la morfología renal y en las variaciones del nivel de urea en sangre bajo la acción de la gentamicina y tobramicina en ratas - (HOUGHTON-1976) (72).

La susceptibilidad de la acción tóxica renal a la gentamicina es variable en función de las diferentes especies de mamíferos estudiados (BLACK-1964; KOSEK-1974) (13, 96). Se ha visto, por ejemplo, que la rata "Fisher-344" es un animal muy util para la investigación de la acción tóxica de la gentamicina, porque tiene

alta sensibilidad al antibiótico.

Estudiando la acción comparativa tóxica del tobramicin y la gentamicina, se ha visto que la última a igualdad de dosis, provoca menos lesiones. Así mismo, las lesiones de ambos antibióticos, se considera que primariamente afectan al tubo contorneado proximal. Inicialmente aumentan los lisosomas y tambien hay un aumento claro, en número y tamaño, de los citosegregosomas, conteniendo muchos de ellos, acúmulos heterogéneos de gránulos, menbranas y agregaciones que constituyen cuerpos mielínicos. Con el tiempo este aspecto vacuolar, tiene tendencia coalescentes y estos elementos lisosomales aparecen grandes e irregulares. Estos cambios, probablemente, son el resultado de un aumento de la actividad autofágica, como respuesta a la lesión focal celular, o quizás tambien, a las alteraciones de las funciones digestivas lisosómicas - (ERICSON-1969) (46).

Se ha visto (HOUGHTON-1976) (72) que después de una aplicación durante 14 días de altas dosis de tobramicin hay una necrosis con regeneración del tubo contorneado proximal. Tambien ha observado el mismo fenómeno en ratas "Fisher", las cuales recibieron 40 mgs./kg/día, después de dos semanas. Esta regeneración tubular se ha discutido a expensa de que elementos celulares se ponen en marcha y parece probable, que estas células provienen de otras de reserva, las cuales están relativamente no lesionadas y que se encuentran en túbulos contorneados proximales y que están activadas, por la lesión que provocan los aminoglicósidos, en su capacidad funcional.

Por ello se piensa que la administración prolongada de estos antibióticos originaría, en la corteza renal, fenómenos de necrosis y regeneración celular, dando como consecuencia una progresiva nefritis crónica intersticial o inflamación (CUPPAGE-1967) (22). Un hecho importante es que la sensibilidad de la célula del túbulo contorneado proximal está en relación con su grado de madurez lo que origina una focal e irregular distribución entre estas células tubulares, reflejando una exageración de los mecanismos normales de regeneración de las células epiteliales y HOUGHTON (1976) (72) piensa que la sensibilidad al fármaco es tanto mayor cuanto más edad tiene la célula. Esto, quizás ampliándolo, llevaría a la consecuencia de que los efectos nefrotóxicos de cualquier fármaco, pueden variar en relación con la edad.

Se vió que en animales jóvenes, que reciben altas dosis de gentamicina, ofrecen menos lesiones que aquellos de mayor edad (HOUGHTON-1976) (72). Por otro lado, la posibilidad de que se engendren anticuerpos contra los antibióticos aminoglicósidos o que se pongan en marcha otros fenómenos adaptativos, que limitan el efecto tóxico de los antibióticos en el riñón, que nosotros sepamos, no ha sido estudiado.



I.III.- PATOLOGIA MITOCONDRIAL POR

ACCION DE LOS AMINOGLUCOSIDOS

El aumento de la frecuencia de infecciones causadas por bacilos Gram (-), es uno de los mayores problemas, en lo que se refiere a las enfermedades infecciosas. La Escherichia klebsiella, Enterobacter, Pseudomonas, y Serratia, forman, hoy día, uno de los problemas hospitalarios de mayor importancia (EICKHOFF-1975 FINLAND-1970) (44, 51). Los aminoglicósidos son los fármacos más utilizados para el tratamiento de estos gérmenes y de las enfermedades por ellos producidas; y los mayores problemas que se desarrollan, son la puesta en marcha de mecanismos de resistencia contra el antibiótico (HOUANG-1976; MARTIN-1961; MEYER-1972; WARREN-1976) (71, 112, 119, 184) y sus potenciales de toxicidad (BULGER-1963; CHANG-1972; FALCO-1969; HORTZMAN-1976; JAKSON-1967-71; KLEIN-1964; TJERNSTROM-1973; WILFERT-1971; EICKHOFF-1977) (17, 26, 48, 70, 77, 78, 91, 176, 196, 45).

Quizás debido al amplio espectro de actuación, la gentamicina ha sido particularmente usada en el tratamiento de tales infecciones. Uno de los problemas más importantes en el uso de la gentamicina, es el estrecho margen entre sus dosis efectivas y su

acción tóxica (EICKHOFF-1977) (45), se han comunicado otros antibióticos como la netil-micina, cuya fórmula es O-2,6-diamino-2,3,4,6-tetradeoxi-alfa-D-glicerol-hex-4-enopiranosil-(1-4)-O-(3-deoxi-4-C-metil-3-(metilamino)-beta-L-arabinopiranosil-(1-6)-2-deoxi-1-N-etil-D-estriptamina, es un nuevo aminoglicósido sintético que tiene una acción tóxica semiaguda en perros, gatos y ratas, y que es menos nefroctóxico y ototóxico, potencialmente, que la gentamicina (SCHERING-1975) (159). EICKHOFF (1977) (45) ha estudiado el efecto comparativo "in vitro" de la actividad de la netilmicina, tobramicina, ampicacina y kanamicina, pero estudios que son puramente clínicos, sin que hayan hecho ningun estudio histológico de control. Así mismo, EICKHOFF (1977) (45) ha estudiado y demostrado, que con pocas excepciones, la actividad "in vitro" de la netilmicina es paralela a la de la gentamicina y las mayores diferencias, las encuentra cuando estudia colonias de Serratias y Estreptococcus A como testigos, en ambos casos, la gentamicina mostró, aproximadamente dos o tres veces, mayor actividad que la netilmicina; y ha visto que la netilmicina es menos activa contra la Pseudomonas aeruginosa, que la gentamicina.

La kanamicina era un antibiótico más activo contra diversos gérmenes tomados como testigos y se demostró que variando la concentración en el medio, de calcio y magnesio varía la sensibilidad de los antibióticos (EICKHOFF-1977) (45).

Desde las primeras descripciones de la ultraestructura mitocondrial por SJOSTRAND (1953) (169) y PALADE (1952-53) - (134, 135) se han valorado los cambios que se provocan en las mito

condrias por la acción de diferentes agentes y se ha prestado especial atención a estos cambios mitocondriales para clarificar, o tratar de entender, los procesos de degeneración celular y de necrosis, así por ejemplo, los trabajos de FRIEDMAN (1961) (54) y WERSALL (1956-62-64-69-71) (190, 191, 192, 193, 194) han demostrado las alteraciones, provocadas por la estrptomicina, en el oído interno con la aparición en las células sensoriales de cuerpos de inclusión. Estos cuerpos se cree, se originan a partir de las mitocondrias. En diversos estudios realizados sobre el oído interno, provocando lesiones con agentes nocivos, tales como antibióticos de acción ototóxica, lesiones traumáticas por el sonido, etc., se han demostrado alteraciones degenerativas de las mitocondrias (BAGGER 1978) (6).

Por otro lado, se cree, que las mitocondrias son muy sensibles a estímulos externos (ROBERTIS-1975) (150) y que provocan alteraciones en su estructura y que estos aspectos morfológicos pueden tomarse como un parámetro para medir si hay o no alteraciones funcionales de las células.

Incluso se han experimentado (BAGGER-1978) (6) la acción de los antibióticos aminoglicósidos, del tipo de la gentamicina sobre las alteraciones mitocondriales en las células sensoriales del reptil Caoltes versicolor, siguiendo las modificaciones mitocondriales que se provocan dentro de las mismas.

Desde la aparición del primer estudio detallado de los cambios ultraestructurales causados por antibióticos ototóxicos -

(DUVALL-1964; WERSALL-1969) (42, 193) se han propuesto diversos mecanismos de tipo primarios, que actúan sobre las mitocondrias de las células sensoriales. SPOENDLIN (1966) (172) estudió los efectos de las altas concentraciones de estreptomicina, inyectándola dentro del oído medio del gato, encontró cambios en el núcleo y en los ribosomas, sugiriendo que el sitio primario de acción de la estreptomicina, en las células sensoriales, estaría en una alteración del sistema de síntesis proteica de las células.

Años más tarde (WERSALL-1969) (193) se encontró una disminución en el contenido ribosómico de las células de la cóclea en cobayas, cuando se trataban con antibióticos aminoglicósidos, e insistió, que al menos, una parte de los efectos tóxicos estaban vinculados a los mecanismos de síntesis proteica.

Los cambios mitocondriales fueron originariamente descritos por FRIEDMAN (1961) (54) en el oído de pollo, después del tratamiento con antibióticos ototóxicos. Como antes decíamos, cambios similares fueron observados en las células de la rampa coclear y vestibular del cobaya, después de la intoxicación por estreptomicina (DUVALL-1964) (42). Estos cambios, también han sido demonstrados en el cobaya, después del tratamiento con kanamicina (LUNDQUIST-1966) (108) y gentamicina por el mismo autor.

Las mitocondrias son, como todos sabemos, uno de los orgánulos más importantes en la vida celular, debido a su especial riqueza enzimática, por eso se considera, que cualquier fármaco que provoque alteraciones en las mitocondrias sea un hecho impor-

tante para que estos orgánulos sean analizados sistemáticamente. Así, se ha visto, que las modificaciones mitocondriales, están en relación muchas veces con el tipo de animal utilizado en la experiencia, el tipo de fármaco, el órgano y, como antes decíamos, de la edad del animal.

Las diferencias en los mecanismos metabólicos de excreción de los fármacos, entre varios animales de diferentes phylum y edad, puede ser causa de que haya distintas respuestas en la acción tóxica. No se puede olvidar que algunas células son mucho más activas metabólicamente que otras, y que sus membranas plasmáticas o de sus orgánulos pueden ser más sensibles que otras - (BAGGER-1978) (6).

La tumefacción mitocondrial se considera como un signo temprano de degeneración y ello representa un cambio inespecífico que se provoca por alteración del transporte de iones a través de la membrana mitocondrial. Una tumefacción persistente se debe, sin duda, a cambios en la actividad metabólica (DOW-1970) (39). Diversos agentes tóxicos son capaces de inducir tumefacciones mitocondriales. La inhibición en la duplicación de los ácidos nucleicos y de la síntesis de proteínas por acción del cloranfenicol y del ethilium bromide, provoca hinchazón y disminución de las crestas mitocondriales de las células tratadas (HOWELL-1971; LENK-1971) (73, 101).

En el oído interno, se demostró esta hinchazón y disminución de las crestas en las células sensoriales después del trata-

miento con sulfato de viomicina.

Estos autores concluyen, que el fármaco penetró en la célula desde la cara superficial y que la mitocondria fue el sitio inicial de actuación de éste. Se considera por otros autores (BAGGER-1978) (6) que esta tumefacción, en estados tempranos, de las mitocondrias, pueden ser reversibles, y se ha visto que después del tratamiento con gentamicina, la tumefacción y disminución de las crestas de las mitocondrias, es de los datos morfológicamente más llamativos. Para TRUMP (1962) (177) este tipo de lesiones mitocondriales probablemente impliquen una alteración de los mecanismos necrobióticos.

Las primeras figuras de mielina, en las células del oído interno, como consecuencia del tratamiento con aminoglicósidos, fueron descritas, que nosotros sepamos, por FRIEDMAN (1961) (54) y DUVALL (1964) (42).

LUNDQUIST (1966-67) (108, 109) encontró estas figuras de mielina en el oído interno tras el tratamiento con kanamicina y gentamicina. Se considera que estas figuras de mielina, originadas por la acción tóxica de la gentamicina, son acúmulos de mitocondrias degeneradas; similares alteraciones, del tipo de figuras de mielina, se han detectado en las mitocondrias en relación con la edad y los mecanismos circulatorios (SACHTOR-1972) (155) a nivel de los músculos voladores de los insectos, y se ha demostrado que hay, en estos casos, una disminución de la actividad citocromo-oxidasa en la porción mitocondrial en la que se está iniciando la degeneración mie

línica para constituir al final estructuras que se designan con el sugestivo nombre de "onion-like".



#### I.IV. - HIPERTROFIA VICARIANTE

Siguiendo la idea de FLANDRE (1967) (52) en la que ha visto que la acción nefrotóxica aumenta en las ratas en las cuales se le ha sometido a una nefrectomia parcial, nosotros hemos basado nuestro estudio en ver las acciones tóxicas que provoca la gentamicina en animales sometidos a una nefrectomia parcial ~~previa, estudiándolo~~ desde el punto de vista bioquímico, histoquímico y ultraestructural.

Las primeras investigaciones que se conocen sobre este interesante problema fueron recogidas por NIESSING en 1944 - (126).

Pero los estudios hechos sobre la hipertrófia vicariante y sus modificaciones en el riñón, corresponden a RIBBERT (1882) (148) en el cual el gran maestro de la histología, da los primeros conceptos diferenciativos en el riñón, sobre la hipertrofia y la hiperplasia de los nefrocitos consecutivos a las modificaciones que se provocan tras la extirpación y lo que sucede en el riñón que permanece. En este trabajo, hace referencias a estudios hechos por PERL

(1881) (137), y hace notar que sus investigaciones realizadas en conejos presentaban fenómenos infiltrativos periglomerulares, que el considera, ya en aquellos tiempos, que no son consecuencia de la experiencia, sino de las modificaciones que se presentan espontáneamente en el riñón de los conejos, considerándolos, en este clásico trabajo, como un hecho normal.

En los estudios de este autor, se llegaron a medir los espesores de las cápsulas de los glomérulos e intentó diferenciar los distintos tamaños de las células que constituyen el pelotón glomerular.

Se ha hecho una revisión ultraestructural de todos los problemas planteados en el estudio del riñón, tanto en su componente glomerular como tubular (RHODIN-1954-58-63) (145, 146, 147).

En España (OLIVA-1963) (130) se estudió las modificaciones renales en variadas condiciones fisiológicas y en 1974, LOPEZ-CAMPOS (104) contribuyó con microscopía óptica a conocer la distribución del mesangio en conejos.

Naturalmente, son numerosos los autores que han estudiado la histología renal en condiciones fisiológicas y patológicas (RHODIN-1958-63; KIRKMAN-1942; TRUMP-1962; WALKER-1973) (146, 147, 89, 177, 183), pero, sin embargo, todavía quedan muchos interrogantes en el comportamiento histofisiológico que posiblemente se aclararan en el futuro.

Según HAM (1975) (65) la importancia funcional del riñón radica en su papel como regulador de los mecanismos de eliminación de sustancias catabólicas y en esta actividad actúan, tanto los glomérulos, como los propios túbulos.

En lo que se refiere a la hipertrofia vicariante, debemos de tener en cuenta que ya, estudios recientes sobre las modificaciones que se provocan tras la nefrectomía unilateral en las ratas (SHEA-1978) (164), se han hecho, desde el punto de vista estereológico. Se ha visto el aumento de volumen de los glomérulos y de los túbulos.

Por otra parte, estudios histológicos y comprobación clínica, han venido a demostrar que pueden ocurrir fenómenos de fallo renal con uremia en ratas cuando se les someten a una nefrectomía subtotal (MORRISON-1966) (122) o procedimientos equivalentes (CHARUTIN-1932) (28); está demostrado que cuando se extrae un riñón, en el riñón que persiste, se inician acusados fenómenos de hipertrofia (KAUFMAN-1974) (85) y que hay un aumento de la filtración glomerular en más de un 50%, comparándolo con los controles dentro de la primera semana después de la intervención (MORRISON 1966) (122), y que fenómenos de poliuria y protenuria aparecen precozmente.

Por otro lado, no hay, mientras no exista fallo renal, un incremento de la urea durante este periodo, sin embargo, esto puede ocurrir debido a las lesiones histológicas, que pueden originarse por una grave alteración de la estructura renal, como conse-

cuencia de ello desarrollarse fenómenos de uremia debido a la progresiva obliteración del glomérulo del riñón remanente. Gran parte de los cambios glomerulares en condiciones experimentales han sido descritos bajo microscopía de luz y electrónica (SHIMAMURA-1975) (165) y podemos concluir que los fenómenos de glomeruloesclerosis que se originan, son paralelos siempre a fenómenos de hipertrofia glomerular (VANCURA-1970; DENN-1974) (179, 35).

Recientemente se ha estudiado la excreción de agua, de sodio y potasio en el curso de la hipertrofia renal y su efecto compensador en la rata, a la cual se le hizo una extirpación del tiroide. En estos estudios, la hipertrofia renal compensatoria, se hace tras la ablación del tiroide por la radioterapia y se estudia la eliminación de agua, sodio y potasio en la orina durante cinco días después del tratamiento, observándose la influencia de la acción del tiroides sobre la estimulación de electrolitos y demostrándose que la falta de hormona tiroidea inhiben los factores tróficos que influyen sobre el crecimiento renal (REVILLE-1976) (143).

Cambios morfológicos renales y experimentales consecutivos a una gran variedad de estímulos en el riñón de la rata se han hecho teniendo en cuenta la edad, dietas, fármacos terapéuticos, toxinas y la influencia de estas circunstancias en la nefrectomía unilateral (SAXTON-1941; DURAND-1964) (157, 41).

Se ha encontrado, como antes indicabamos, una gradual glomeruloesclerosis que aumenta con la edad en muchas especies (GUTTMAN-1960) (61). Diferentes toxinas junto con radiaciones, so

las o combinadas con la nefrectomía unilateral (ROSEN-1968) (152), aceleran o estimulan la acción lesiva de los elementos tóxicos en el riñón.

Un aspecto muy importante en el estudio de la hipertrofia renal compensatoria se refiere a la síntesis de proteínas (COE-1967) (21), las cuales no han sido todavía estudiadas con gran detalle. Investigaciones clásicas estudiaron el incremento del riñón de la rata tras la nefrectomía contralateral (ARATAKI-1926) (4) y más recientemente el contenido de proteínas en el riñón de la rata, ha sido medido durante la primera de las cinco semanas después de la nefrectomía unilateral. Se ha visto el aumento de nefrocitos y de ARN (HALLIBURTON-1965) (64) y ello sugiere (MANDEL-1950) - (110) que tras la nefrectomía, los fenómenos de síntesis proteicas aparecen estimulados.

Por otra parte, se ha visto que la restricción de las dietas alimenticias previenen el aumento de la glomeruloesclerosis originadas por rayos X (KOMISHI-1962) (95). También se puso de manifiesto (MURRAY-1971) (123) que la asociación de la nefrectomía unilateral con el abuso de analgésicos provocaba lesiones renales más intensas.

Recientemente, MEERSON (1965) (117) ha demostrado, utilizando metionina- $^{35}\text{S}$ , que hay una intensa elevación de la síntesis proteica, pero que nosotros sepamos todavía no se ha hecho una sistemática descripción de estos mecanismos de síntesis proteica durante la regeneración renal.

Un dato importante es que la eliminación de orina es más importante en las ratas uninefrectomizadas, lo que de acuerdo con el mantenimiento exagerado de la excreción de electrolitos parece sugerir una reducción de la absorción fraccionada de sodio en el asa de Henle, muy semejantes a las descritas en perros sometidos a hidropenia con estirpación de un riñón y tratados con un diurético del asa (WEN-1976) (189). Parece corroborar esta idea la tendencia ni significativa, sin embargo, a una mayor excreción de potasio en las ratas nefrectomizadas, lo que hace pensar en mecanismos de adaptación funcional renal cuando la masa orgánica está reducida (COBO-1980) (20).

Una participación del tubo contorneado proximal en estos mecanismos de adaptación parece, también, estar presente, ha Bida cuenta del incremento mayor de la excreción de fosfatos en las ratas nefrectomizadas.

La eliminación de proteínas sufre claras oscilaciones en el grupo de ratas deficitarias renales, aunque al final del estudio los valores son superponibles en los dos grupos de animales.

Todos los cambios aparecidos sugieren la puesta en - marcha de mecanismos adaptativos para el mantenimiento de la cons tancia del medio interno, a través, entre otros, de una salida intra celular al espacio extracelular, degradación proteica y pérdida de potasio pueden justificar los cambios hallados por nosotros (COBO-1980) (20).

## II.- MATERIAL Y METODOS



## MATERIAL, METODOS Y TECNICAS

Se han usado 288 ratas, machos y hembras, Sprage Dawley, de un peso comprendido entre 220 y 515 gramos, dispuestas en los siguientes grupos experimentales:

### Grupo I

Comprende 144 ratas, divididas en cuatro series.

### Grupo II

Consta de 144 ratas, divididas en cuatro series, que sufrieron nefrectomia unilateral unas semanas antes de la experiencia.

Cada serie de ambos grupos, consta a su vez de seis subgrupos, de 6 ratas cada uno, mantenidas en ayuno total de alimento y agua, durante 24, 36, 48, 60, 72 y 84 horas, dentro de jaulas metabólicas acondicionadas para la recogida de orina de forma continua, sin mezcla de heces.

Las dosis diarias de gentamicina, administrada por vía intraperitoneal, fueron las siguientes, en ambos grupos:

Serie I: de control, sin gentamicina, solo excipiente.

Serie II: se administró 40 mg./Kg./día de gentamicina

Serie III: se administró, 80 mg./Kg./día de gentamicina.

Serie IV: se administró, 160 mg./Kg./día de gentamicina.

En la sangre de los animales de ambos grupos, se controló:

- a) Cloruros en m. Eq/l (ó m. mol/l)
- b) Fósforo inorgánico en m. mol/l
- c) Potasio en m. mol/l
- d) Sodio en m. mol/l
- e) Fosfatasa alcalina en U/l
- f) Proteínas totales en gr/l
- g) Bilirrubina total en mg%

En la orina de los animales de ambos grupos se controló:

- a) Diuresis, en ul/hora
- b) Electrolito, en umol/hora
- c) Proteínas totales en mg/hora
- d) Fosfato inorgánico, en umol/hora
- e) Fosfatasas alcalinas, en mU/hora

Proteínas, fosfatos y fosfatasas, se determinaron colorimetricamente (VITRATON UFD-100) usando juegos de reactivos preparados de Merck o Boehringer Mannheim, y los electrolitos mediante fotometría de llama (RADIOMETER FILM-2).

Transcurridos los plazos fijados para las pruebas, todos los animales fueron sacrificados por desnucamiento procediéndose a la extracción de los riñones, para estudio microscópico convencional y electrónico. En el primer caso se extrajo, sistemáticamente, el riñón izquierdo fijando en formol. Para el estudio con microscopio electrónico se perfundió glutaraldehído a través de la arteria renal derecha extrayéndose el órgano, a continuación, se fijó la mitad del riñón no utilizada en este mismo sustrato.

Todos los datos analíticos se han valorado, estadísticamente, por análisis de varianza mediante programas ANOVA de la SSP de IBM, modificado por JODAR, del Centro de Cálculo de C. H. Boehringer Sohn Ingelheim, S.A.E., usando un ordenador IBM 370/115.

## TECNICAS HISTOLOGICAS

Una vez seleccionado el tejido se procedió a su inclusión y obtención de los cortes para su posterior tinción y observación al microscopio óptico y electrónico.

El procesamiento para la microscopia óptica ha sido el siguiente:

1.- FIJACION en formol al 10% tamponado con fosfatos a pH=7-7.2, para proteger a los tejidos contra la acidificación de la formalina, aparte de estabilizar la mayoría de los carbohidratos. Las muestras se fijaron a 4°C durante 2-4 días.

Finalizada la fijación se procedió a la inclusión de las muestras, realizando los siguientes pasos:

2.- LAVADO

3.- DESHIDRATACION de las piezas en soluciones de

etanol de concentraciones crecientes hasta etanol absoluto.

4.- ACLARADŪ en benzoato de metilo y posteriormente se sometieron las piezas a la acción del benzol para pasarlos a la

5.- INCLUSION EN PARAFINA según la técnica habitual, previo paso de las piezas por una mezcla de benzol y parafina a partes iguales, en estufa a 37°C. Se ha utilizado parafina Merck (BLOCKFORM ERST.- P 57-60°C.).

Hechos los bloques, se hicieron cortes de 7-9 micras en un microtomo de parafina Leitz. Los cortes se montaron sobre portaobjetos extendiendo sobre estos unas gotas de albúmina de Mayer para lograr mayor adherencia.

Los cortes se secaron en estufa a 37°C durante 30 minutos. Una vez desparafinados en xilol e hidratados, se procedió a teñirlos siguiendo las técnicas siguientes:

#### A.- HEMATOXILINA-EOSINA

##### Soluciones y materiales

##### 1.- Hematoxilina de Harris (8 minutos)

Hematoxilina ferrica (Harris) .....	1g
Etanol absoluto .....	10 ml
Agua destilada .....	300 ml
Oxido de mercurio rojo .....	0.5 g

##### 2.- Viraje en agua corriente (5 minutos)

##### 3.- Inmersión en agua/CIH (dos gotas)

- 4.- Viraje en agua corriente (5 minutos)
- 5.- Eosina (2 minutos)
- 6.- Lavar, deshidratar y montar.

El desarrollo de las técnicas histoquímicas se detalla a continuación:

PAS (técnica de McManus y Mowry) (1968) (115)

Soluciones y materiales

- 1.- Acido peryódico al 1% (10 minutos)
- 2.- Lavado con agua destilada
- 3.- Cubrir con reactivo de Schiff en oscuridad  
(30 minutos)
 

Fucsina básica pulverizada .....	2 g
Agua en ebullición .....	400 ml
CIH concentrado .....	5 ml
Metabisulfito sódico .....	4 g
- 4.- Agua sulfurosa, lavar tres veces (3 minutos)
 

Metabisulfito potásico .....	1 g
Agua destilada .....	100 ml
CIH 1N .....	5 ml
- 5.- Viraje en agua corriente (5 minutos)
- 6.- Lavado en agua destilada
- 7.- Deshidratar y montar. Puede contrateñirse la preparación con hematoxilina.

AZUL ALCIAN A PH=0.5 (técnica de Lev y Spicer) - (1964) (101).

Soluciones y materiales

1.- Solución lavadora a pH=0.5

ClH (D=1.19) .....	4.2 ml
Bifosfato sódico .....	1.38 g
Agua destilada .....	100 ml

2.- Azul Alcian a pH=0.5 (30 minutos)

Azul Alcian 8GX .....	1 g
Solución lavadora .....	100 ml

3.- Lavar con la solución de lavado (5-10 segundos)

4.- Lavar con agua destilada, 3 veces 1 minuto

5.- Teñir con rojo nuclear (5 minutos)

6.- Lavar, deshidratar y montar

AZUL ALCIAN A PH=1 (técnica de Lev y Spicer) (1964)  
(101)

Soluciones y materiales

1.- Azul Alcian a pH=1 (30 minutos)

Azul Alcian 8GX .....	1 g
ClH 0.1 N .....	100 ml

2.- Lavar tres veces con agua destilada (1 minuto)

3.- Teñir con Rojo Nuclear (5 minutos)

4.- Lavar, deshidratar y montar

AZUL ALCIAN A PH=2.5 (técnica de Lev y Spicer) -  
(1964) (101)

Soluciones y materiales

1.- Solución lavadora pH=2.5 (3 minutos)

Acido acético .....	3 ml
Agua destilada .....	97 ml

2.- Azul Alcian a pH=2.5 (30 minutos)

Azul Alcian 8GX ..... 1 g  
Solución lavadora ..... 100 ml

3.- Lavar con solución lavadora (5-10 segundos)

4.- Lavar con agua corriente filtrada (5 minutos)

5.- Lavar con agua destilada (2 minutos), 3 veces

6.- Teñir con rojo nuclear para contratinción (5-6 minutos)

7.- Lavar con agua destilada

8.- Deshidratar y montar

#### HIERRO COLOIDAL (Hale, 1956) (63)

##### Soluciones y materiales

1.- Acido acético al 12% (30 segundos)

2.- Solución de trabajo del hierro coloidal (1 hora)

Solución madre ..... 20 ml  
Acido acético glacial ..... 5 ml  
Agua destilada ..... 14 ml

La solución madre del hierro coloidal se prepara disolviendo 4.4 ml de solución de cloruro férrico al 29% en 2500 ml de agua destilada.

3.- Acido acético al 12% (lavar cuatro veces durante 3 minutos)

4.- Solución clorhídrico-ferrocianuro (20 minutos)

Acido clorhídrico al 2%

Ferrocianuro potásico al 2%

5.- Lavar con agua corriente (5 minutos)



6.- Contrateñir con rojo nuclear o hematoxilina de Harris

7.- Lavar, deshidratar y montar

Para la obtención de cortes semifinos se emplearon - muestras de riñón de un milímetro cúbico aproximadamente.

El procesamiento seguido hasta la obtención de los bloques ha sido el siguiente:

FIJACION en glutaraldehído al 3% en tampón de fosfatos, tres veces durante 3 horas.

POSTFIJACION con tetróxido de osmio al 1% en tampón de fosfatos.

TINCION en bloque con acetato de uranilo en tampón durante 1 hora.

DESHIDRATACION en soluciones de etanol de concentraciones crecientes, 35%, 70%, 95% y dos baños de 100%, todos durante un tiempo de 15 minutos, seguido de inmersión en óxido de propileno (2 veces) durante 15 minutos.

INCLUSION en resina para microscopía electrónica Durcupan (GLAVER 1956-1958) (58, 59). En primer lugar se introducen las piezas de tejido en una mezcla de óxido de propileno-Durcupan a partes iguales; mezcla que se va enriqueciendo en la resina hasta llegar a resina pura; este paso dura unas tres horas aproximadamen

te. Posteriormente, se someten las piezas a la acción de resina pura durante 18-24 horas.

### Preparación del Durcupan ACM FLUKA

A/M .....	10 ml.....	Araldita CY 212
B .....	10 ml.....	Endurecedor 964 (dos_
		anhidro dodecenil suc
		cínico).
C.....	0.3 ml .....	Acelerador 964 (DMP
		30,2,4,6 trimetil ami
		nometil fenol).
D.....	0.1 ml .....	Plastificante (DBP, di
		butil ftalato).

Una vez preparado los bloques con sus respectivas piezas, se mantuvieron en estufa a 60°C. durante 48 horas.

Los cortes se realizaron como sigue:

#### Materiales:

- 1.- Ultramicrotomo Ultratome LKB III
- 2.- Rejillas de cobre de 3 m.m. de diámetro.

#### Procedimiento:

Se realizaron cortes semifinos de control de 0.5  $\mu$ m. de grosor que se montaron sobre portaobjetos de vidrio y se tiñeron con azul de toluidina/bórax

Azul de Toluidina ..... 4 g

Bórax ..... 5g  
Agua destilada ..... 5 ml

Se añade el bórax al agua destilada y en dicha solución se disuelve el azul de toluidina; se calienta hasta ebullición, se deja enfriar y se filtra.

La tinción de controles se realiza cubriendo los cortes con el preparado anterior, manteniendolo a la llama hasta la emisión de vapores; posteriormente se lavan con agua corriente y se dejan secar al aire.

Los cortes finos para observar al microscópio electrónico oscilaron netre 600-800 Å de grosor, montándose sobre las rejillas de cobre. El contraste de los cortes se realizó como sigue:

**Materiales:**

1.- Acetato de uranilo ..... 7.5 g  
    Agua destilada ..... 100 ml  
2.- Citrato de plomo ..... 20 mg  
    Agua destilada ..... 10 ml  
    Hidróxido sódico 10 N ..... 0.1 ml

**Procedimiento:**

- 1.- Se colocan sobre una superficie de parafina o cera dental, tantas gotas de uranilo como rejillas se deban contrastar.
- 2.- Se ponen en contacto las rejillas con el uranilo durante 20 minutos.

- 3.- Lavar las parrillas con agua destilada.
- 4.- Contrastar seguidamente con citrato de plomo durante 5 minutos.
- 5.- Lavar con agua alcalina para evitar que precipite el carbonato.
- 6.- Secar.

## OBSERVACION Y FOTOGRAFIAS

Este apartado de la experimentación se realizó en el microscópio electrónico marca SIEMENS "ELMISKOP-102" del Departamento de Citología e Histología Animal y Vegetal de la Facultad de Biología de la Universidad de Sevilla. Servicio de M.E. "Rector González García".

Las micrografías fueron impresionadas sobre placas Kodak de 6 x 9 cm<sup>2</sup>.

### III.- RESULTADOS

III.I.- RESULTADOS CLINICOS, BIOQUIMICOS  
Y ESTUDIO ESTADISTICO

### CIFRAS NORMALES EN RATA (118)

Cloruros	105-117 mEq/l (6 mmol/l)
Fosforo inorgánico	1.71-3.42 mmol/l
Potasio	5.4-6.4 mmol/l
Sodio	140-150 mmol/l
Fosfatasa alcalina	97.9-21.7 U/l
Proteínas totales	40.7-93.0 gr/l
Bilirrubina total en sangre	0.15 0.15 mg% (sin influencia sex.)

PESO (Gramos/12 horas)

1.- Descenso significativo del peso, tanto en un grupo como en otro.

2.- No hay diferencia entre que esté nefrectomizado y no nefrectomizado.



TABLA 1.- Peso (gr.) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante - periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	-10±1,29 (6)	-13,33±1,66 (6)	-12,50±0,11 (6)	-14,17±1,53 (6)
36 horas	-11,11±1,11 (6)	-11,11±0,7 (6)	-10,56±1,02 (6)	-11,67±0,74 (6)
48 horas	-9,58±1,09 (6)	-7,92±0,41 (6)	-8,75±0,88 (6)	-8,13±0,77 (6)
60 horas	-9,0±1,23 (6)	-8,83±1,55 (6)	9,33±0,84 (6)	8,67±0,66 (6)
72 horas	-7,78±0,35 (6)	-6,39±1,45 (6)	7,50±0,71 (6)	-6,94±0,79 (6)
84 horas	7,50±0,81 (6)	7,38±0,68 (6)	7,98±1,05 (6)	6,43±0,35 (6)

Evolución del Peso (Final-Inicial) (gr/12 h) en ratas no  
nephrectomizadas,  $\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

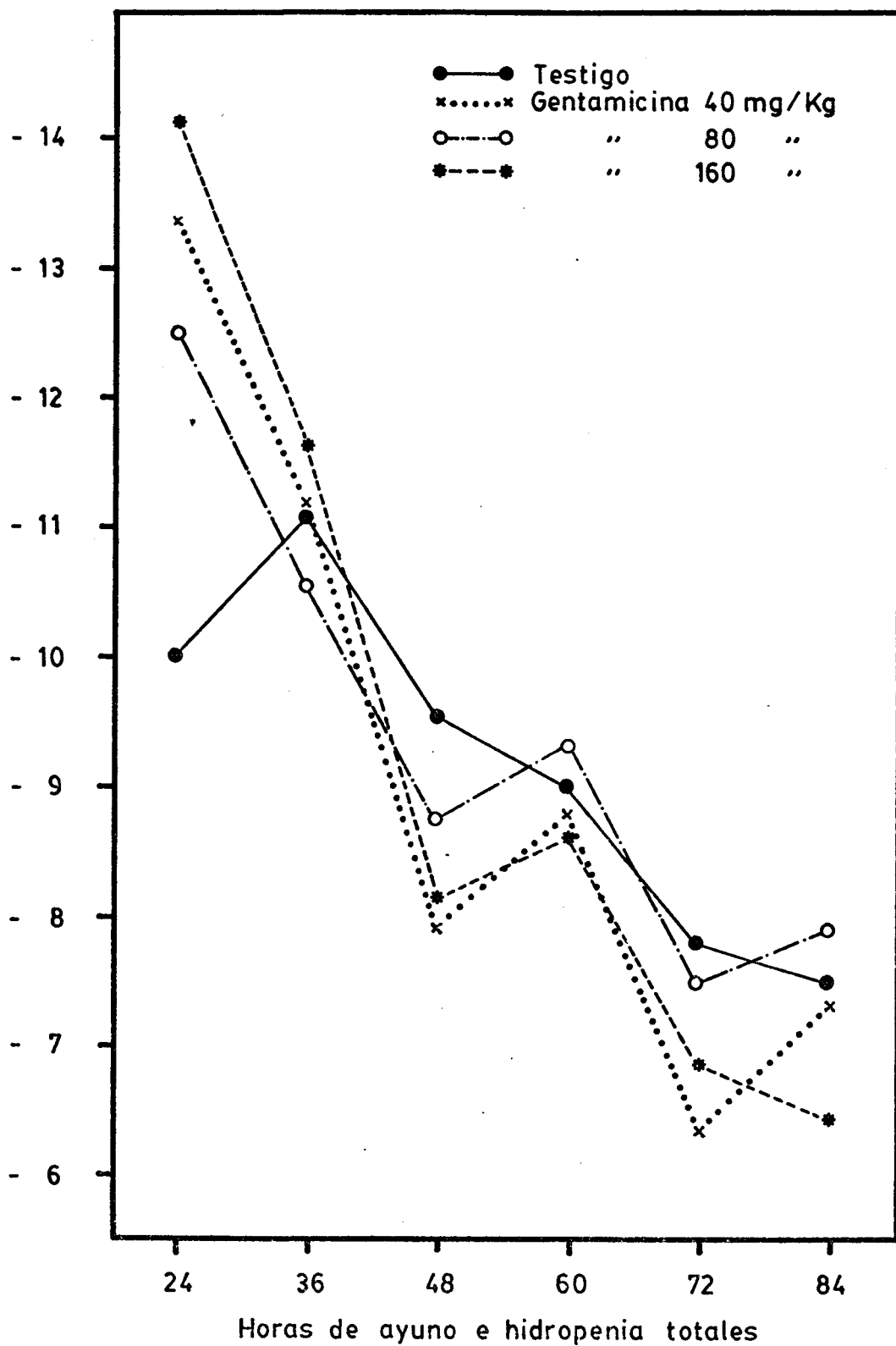


TABLA 2.- Peso (gr.) en ratas nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	-15±1,29 (6)	-10,83±0,83 (6)	-10,83±0,83 (6)	-10,83±1,53 (6)
36 horas	-9,44±1,33 (6)	-10,83±1,03 (6)	-10,0±1,21 (6)	-12,22±0,7 (6)
48 horas	-9,17±0,83 (6)	-8,75±0,55 (6)	-8,75±1,07 (6)	-7,92±0,76 (6)
60 horas	-8,67±0,70 (6)	-8,33±0,95 (6)	-8,0±0,51 (6)	-8±73 (6)
72 horas	-8,19±0,15 (6)	-7,5±0,71 (6)	-6,67±0,43 (6)	-6,67±0,43 (6)
84 horas	-6,79±993 (6)	-6,90±0,68 (6)	-8,10±0,95 (6)	-7,5±944 (6)

Evolución del Peso (Final-Inicial) (gr/12 h) en ratas no nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

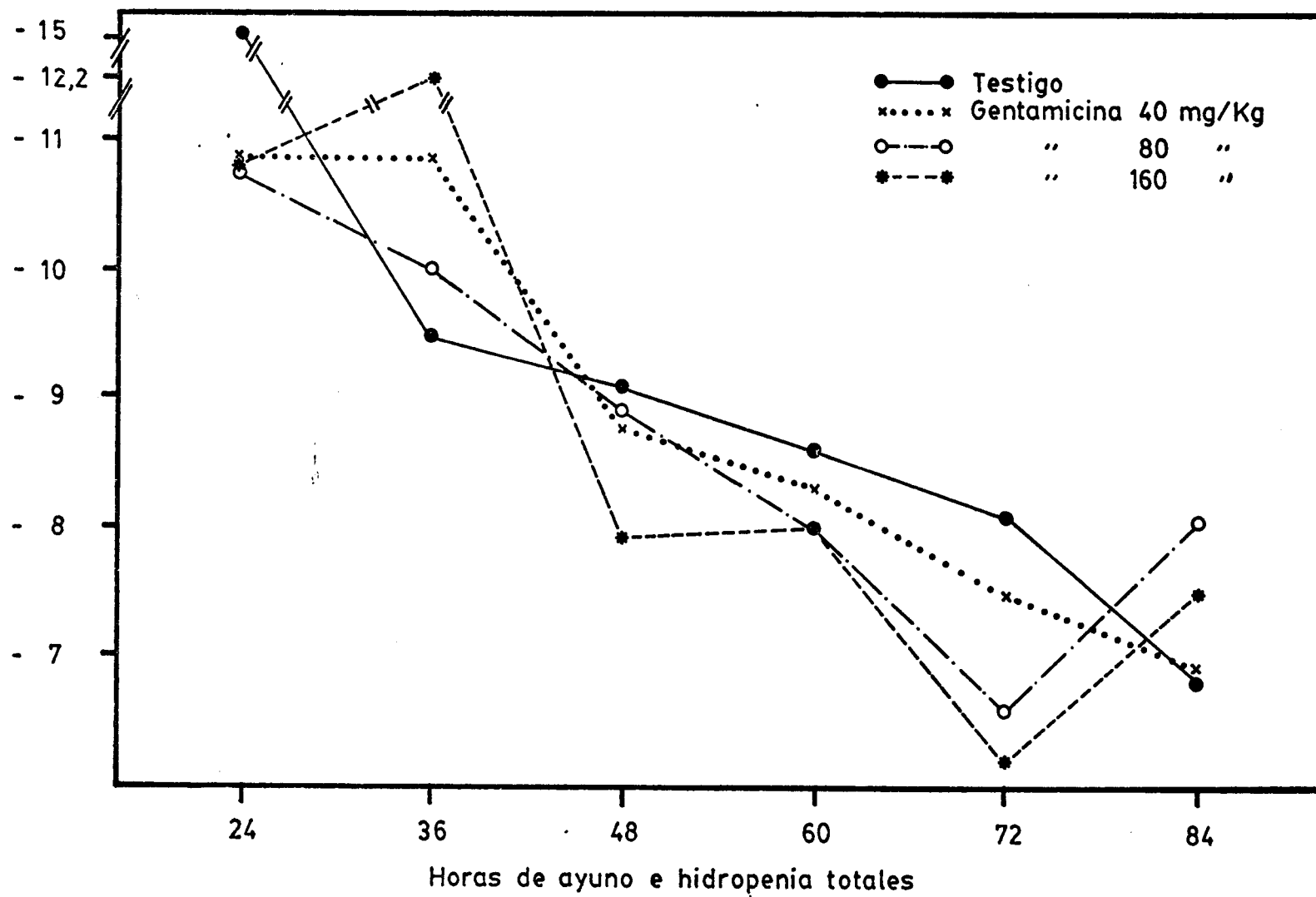


TABLA 3.- Resultados de análisis estadístico de la variación del  
Peso en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	0,19	N.S
	Entre intervención	1	0,46	N.S
	Interacción	3	4,31	P < 0,01
36 horas	Entre las dosis	3	1,22	N.S
	Entre intervención	1	0,46	N.S
	Interacción	3	0,41	N.S
48 horas	Entre las dosis	3	1,04	N.S
	Entre intervención	1	0,01	N.S
	Interacción	3	0,23	N.S
60 horas	Entre las dosis	3	0,10	N.S
	Entre intervención	1	1,10	N.S
	Interacción	3	0,11	N.S
72 horas	Entre las dosis	3	1,006	N.S
	Entre intervención	1	0,04	N.S
	Interacción	3	0,67	N.S
84 horas	Entre las dosis	3	0,78	N.S
	Entre intervención	1	0,00	N.S
	Interacción	3	0,53	N.S

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza(Snedecor)

TABLA 4.- Resultados del análisis estadístico de la variación del Peso en función de la Nefrectomia.  
Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	P
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,11	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	17,59	P < 0,01
	INTERACCION	15	0,93	N.S
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	1,07	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	18,12	P < 0,01
	INTERACCION	15	1,63	N.S

### CLORUROS EN SANGRE

1.- Dosis tiempo no hay diferencias significativas.

2.- Al comparar los animales operados y no operados, se observa que hay un descenso progresivo significativo a las 48 horas (en función de la dosis del fármaco).

3.- Este fenómeno no se da ni a las 36, 60, 72 y 84 horas, por lo tanto se compensa.

TABLA.5.- Cloruros (mEq/l) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	109,25±1,10 (4)	107,67±0,88 (3)	109,33±3,44 (6)	108±2,42 (5)
36 horas	108,40±3,81 (5)	110,17±1,19 (6)	107,75±5,89 (4)	108 ±2,88 (3)
48 horas	114,67±3,09 (6)	109 ±1,81 (5)	111,40±2,6 (5)	106 ±2,51 (5)
60 horas	106,40±0,74 (5)	109,83±2,25 (6)	107,50±4,34 (4)	106,83±3,85 (6)
72 horas	107 ±2,19 (6)	119,80±3,3 (5)	107 ±0,67 (5)	106,83±2,95 (6)
84 horas	108,67±2,09 (6)	109,20±1,15 (5)	105,50±1,64 (6)	102 ±1,29 (6)



Evolución de la Cloruremia (mmoles/l) en ratas no nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

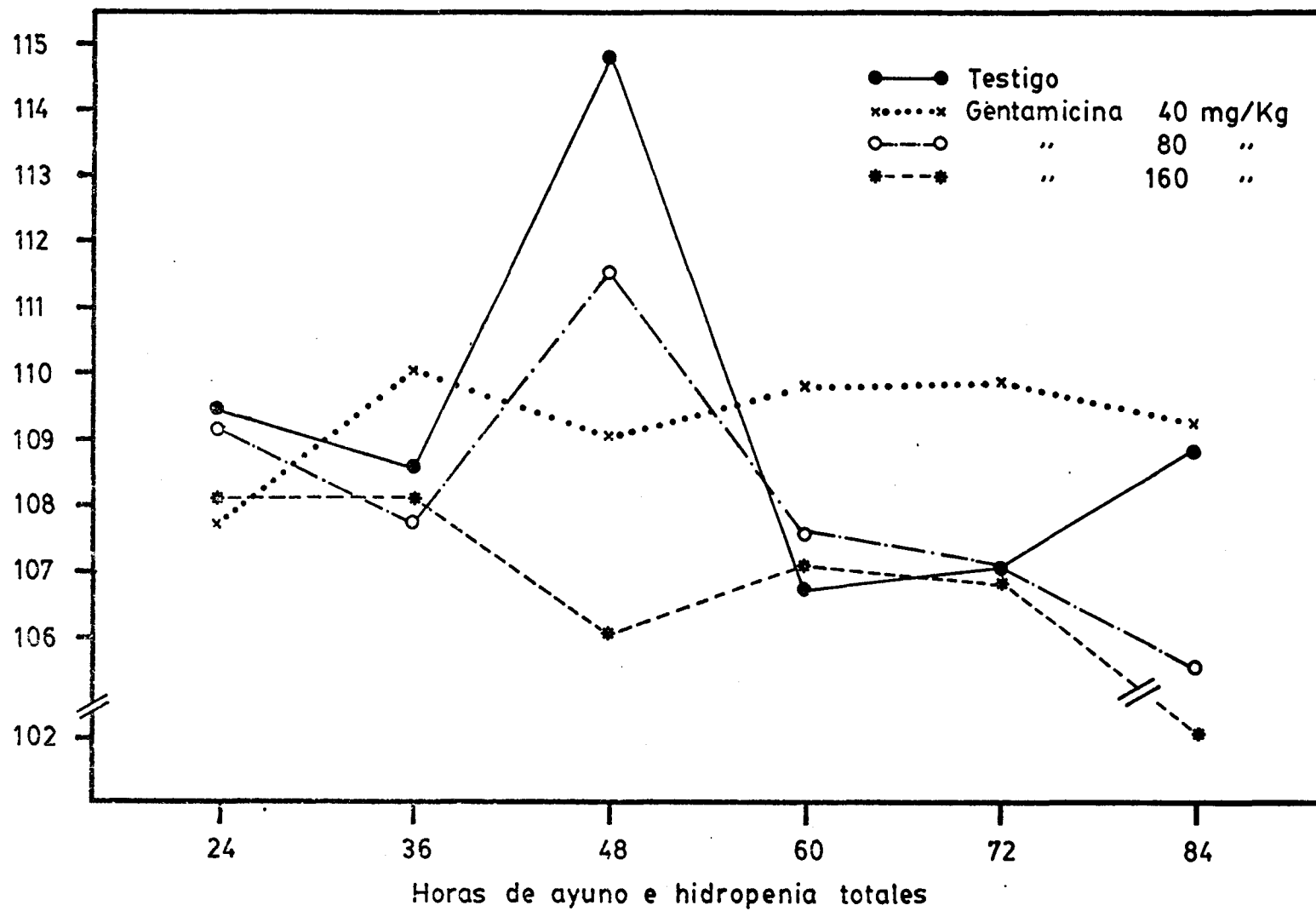


TABLA 6.- Cloruros (mEq/l) en ratas nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	106,67±1,85 (6)	106 ±4,04 (4)	107 ±2,02 (5)	109 ±0,68 (6)
36 horas	110,2±2,26 (5)	106,5±2,21 (6)	110 ±3,64 (5)	109 ±2,17 (6)
48 horas	109,50±2,10 (4)	109,8±3,54 (5)	106,83±1,70 (6)	103,83±2,79 (6)
60 horas	108 ±1,37 (5)	113 ±2,76 (6)	104,2±4,24 (5)	108,33±2,42 (6)
72 horas	107,33±1,02 (6)	111,33±4,34 (6)	109,4±2,37 (5)	111,80±3,26 (5)
84 horas	120,33±23,62 (3)	107,25±1,10 (4)	106,4±3,98 (5)	109,50±2,40 (6)

Evolución de la Cloruremia (mmoles/l) en ratas nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

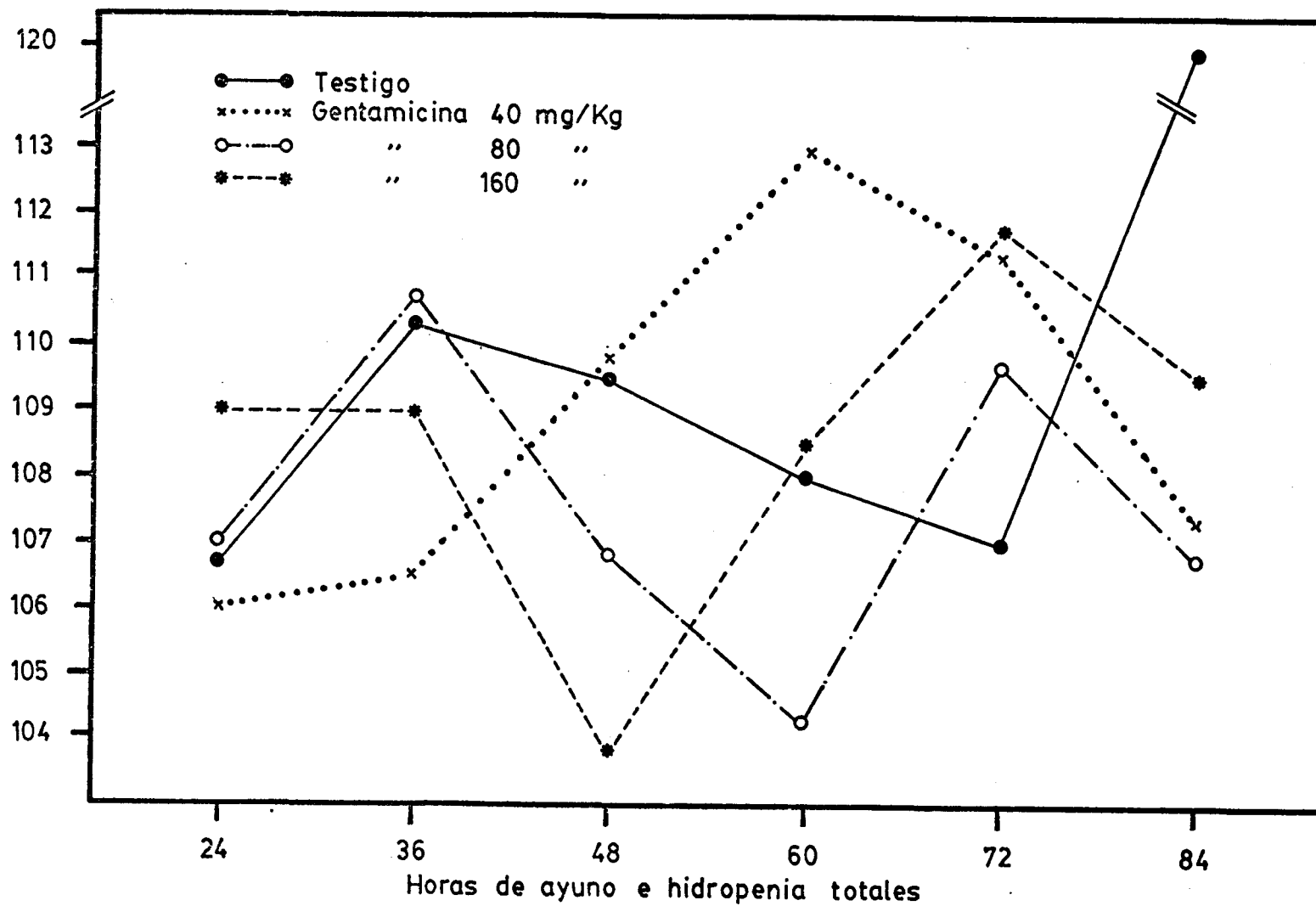


TABLA 7.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de Cloruros en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	0,19	N.S.
	Entre intervención	1	0,65	N.S.
	Interacción	3	0,23	N.S.
36 horas	Entre las dosis	3	0,06	N.S.
	Entre intervención	1	0,01	N.S.
	Interacción	3	0,50	N.S.
48 horas	Entre las dosis	3	2,95	$p < 0,05$
	Entre intervención	1	3,11	N.S.
	Interacción	3	0-20	N.S.
60 horas	Entre las dosis	3	1,50	N.S.
	Entre intervención	1	0,19	N.S.
	Interacción	3	0,45	N.S.
72 horas	Entre las dosis	3	0,57	N.S.
	Entre intervención	1	1,37	N.S.
	Interacción	3	0,23	N.S.
84 horas	Entre las dosis	3	0,79	N.S.
	Entre intervención	1	1,12	N.S.
	Interacción	3	0,83	N.S.

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza(Snedecor)

TABLA 8.- Resultados del análisis estadístico de la variación de Cloruros en función de la nefrectomía.  
Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	P
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	1,95	N.S.
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	1,20	N.S.
	INTERACCION	15	0,53	N.S.
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,38	N.S.
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	0,43	N.S.
	INTERACCION	15	0,79	N.S.

## FOSFATOS EN SANGRE

1.- En función del tiempo se aprecia una caída a las 36 horas que después se recupera (en los animales no nefrectomizados). En los nefrectomizados no se dan modificaciones.

2.- A las 24 horas, no hay diferencias entre ambos grupos y a las 36 horas, hay una caída en las no nefrectomizadas, 6, 46, en las operadas y 5, 17 en las no operadas.

3.- A las 60 horas hay diferencias entre las operadas y las no operadas, el fenómeno es significativo pero a la inversa, es decir, que aumentan los fosfatos en sangre en las no nefrectomizadas 6, 50 con 5, 14 en las nefrectomizadas.

TABLA 9.- Fosfatos en sangre (m.mol/l) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	27,64±0,23 (4)	12,36±1,5 (3)	33,55±0,97 (6)	42,65±1,35 (5)
36 horas	25,83±1,05 (5)	30,15±0,82 (6)	21,94±1,61 (4)	15,10±0,31 (3)
48 horas	37,27±0,67 (6)	35,53±0,36 (5)	31,79±0,39 (5)	37,46±0,65 (5)
60 horas	32,7±0,50 (5)	36,06±0,48 (6)	25,73±0,46 (4)	41,93±0,6 (6)
72 horas	40,9±0,37 (6)	25,20±0,39 (4)	35,03±0,41 (5)	35,93±0,37 (6)
84 horas	51,11±1,2 (6)	30,78±0,58 (5)	37,96±0,32 (6)	40,29±0,60 (6)

Evolución de la Fosfatemia (mg/100ml) en ratas no nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

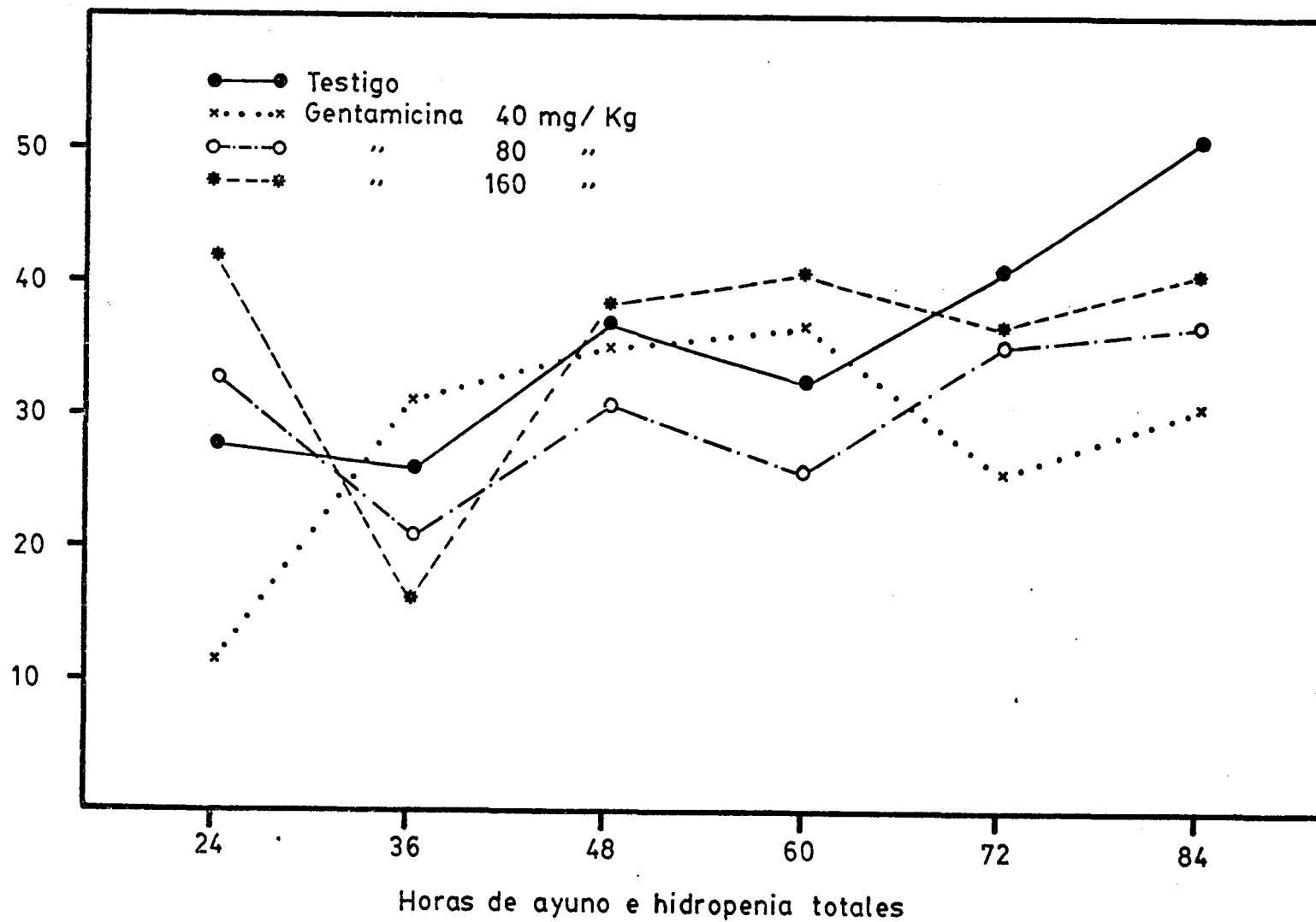




TABLA 10.- Fosfatos en sangre (m. mol/l) en ratas nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	44,82±0,76 (6)	20,58±0,54 (4)	34,58±0,95 (5)	171,72±20,44 (6)
36 horas	32,56±0,31 (5)	33,60±0,18 (6)	32,42±0,56 (5)	43,67±0,94 (6)
48 horas	23,79±0,19 (4)	32,03±0,32 (5)	37,86±0,64 (6)	37,96±0,76 (6)
60 horas	24,51±0,19 (5)	27,09±1,17 (6)	29,09±0,46 (5)	32,54±1,73 (6)
72 horas	40,96±0,72 (6)	36,88±0,19 (6)	31,51±0,32 (5)	35,67±0,6 (5)
84 horas	9,22±0,5 (3)	22,50±0,12 (4)	42,05±1,63 (5)	49,83±0,76 (6)

Evolución de la Fosfatemia (mg/100ml) en ratas nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

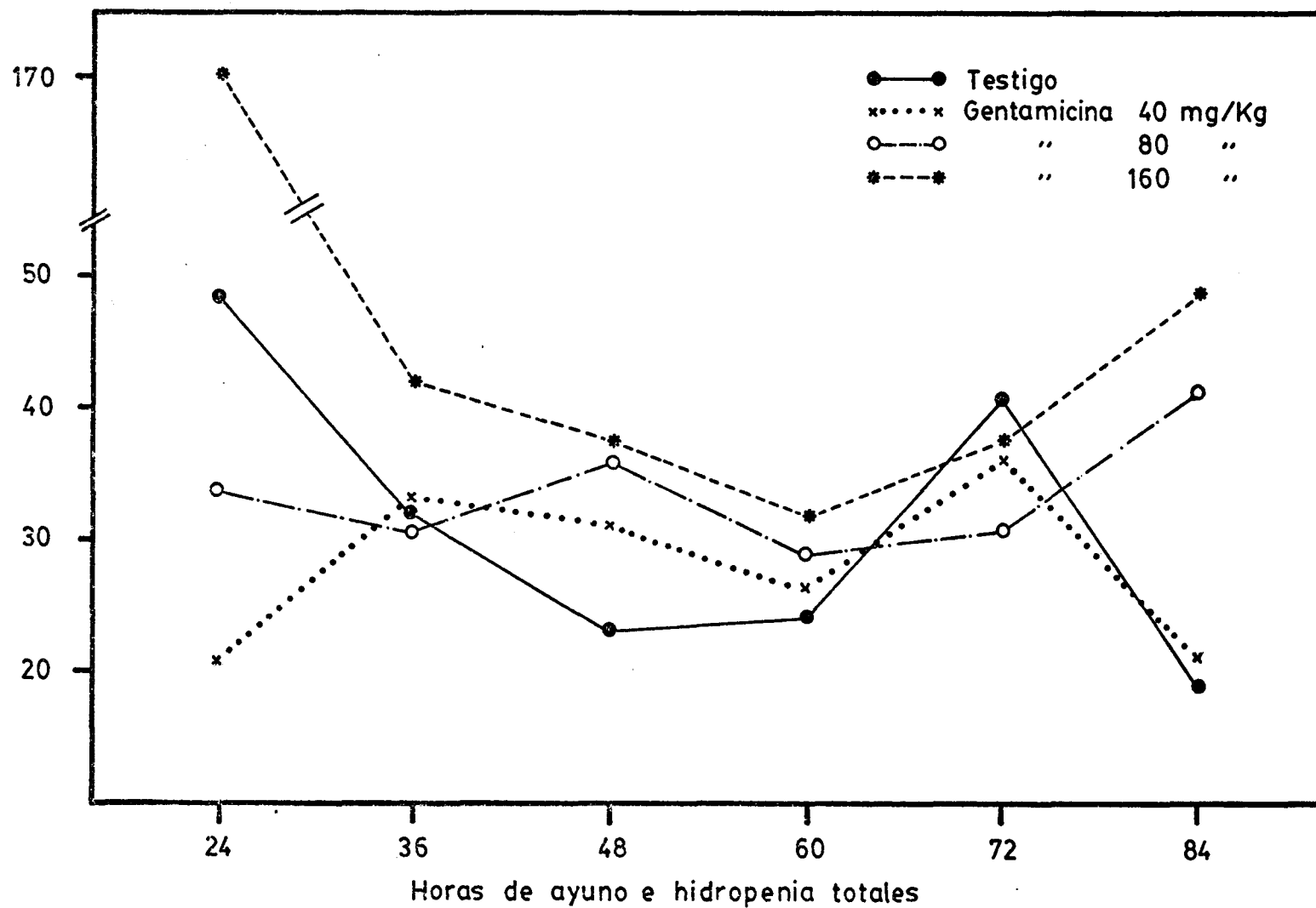


TABLA 11.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de los Fosfatos en sangre en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	1,11	N.S
	Entre intervención	1	0,95	N.S
	Interacción	3	0,55	N.S
36 horas	Entre las dosis	3	0,76	N.S
	Entre intervención	1	4,80	P < 0,05
	Interacción	3	0,11	N.S
48 horas	Entre las dosis	3	0,74	N.S
	Entre intervención	1	1,46	N.S
	Interacción	3	0,48	N.S
60 horas	Entre las dosis	3	0,45	N.S
	Entre intervención	1	4,22	P < 0,05
	Interacción	3	0,15	N.S
72 horas	Entre las dosis	3	0,58	N.S
	Entre intervención	1	0,04	N.S
	Interacción	3	1,29	N.S
84 horas	Entre las dosis	3	1,54	N.S
	Entre intervención	1	0,51	N.S
	Interacción	3	2,13	N.S

\*-Grados de Libertad

\*\*.-Razón de Varianza(Snedecor)

TABLA 12.- Resultados del análisis estadístico de la variación de los Fosfatos en sangre en función de la nefrectomía.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	P
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	1,60	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	2,59	P < 0,05
	INTERACCION	15	1,43	N.S
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	1,28	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	1,23	N.S
	INTERACCION	15	0,81	N.S

## POTASIO EN SANGRE

1.- En las no operadas el potasio no se modifica ni en función del tiempo, ni de las dosis del fármaco.

2.- En las operadas hay diferencias significativas, de caída de potasio a las 36, 48 y 60 horas, y recuperación a las 72 horas.

3.- Al comparar las operadas y las no operadas, a las 24 horas no hay diferencias, a las 36 horas hay diferencias entre las operadas y las no operadas, ya que hay una caída significativa en las ratas operadas, ya que las medidas son 4,4 en las operadas y 6,8 en las no operadas. A las 48 horas, existe una disminución del potasio en las operadas, no alcanza niveles de significación que si se vuelve a encontrar a la 60 horas con valores de 4,16 en las operadas y 5,56 en las no operadas. A las 72 horas no hay diferencias significativas, ya que el potasio en las operadas sube a 6,4. A las 84 horas están nivelados los dos valores en los dos grupos de ratas.

TABLA 13.- Potasio en sangre (m.mol/l) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	5,58±0,22 (4)	4,03±1,09 (3)	4,92±0,82 (6)	5,40±1,09 (5)
36 horas	6,98±2,62 (5)	5,52±0,97 (6)	8,60±4,21 (4)	6,63±1,21 (3)
48 horas	4,10±0,58 (6)	7,66±1,80 (5)	5,38±0,87 (5)	5,22±0,55 (5)
60 horas	6,88±0,64 (5)	6,15±0,96 (6)	5,05±0,96 (4)	4,22±0,38 (6)
72 horas	4,93±0,80 (6)	5,18±0,81 (5)	5,52±1,06 (5)	5,55±0,62 (6)
84 horas	5,38±1,23 (6)	6,20±1,83 (5)	5,15±0,59 (6)	7,17±1,27 (6)

Evolución del Potasio en Sangre (mmoles/l) en ratas no nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

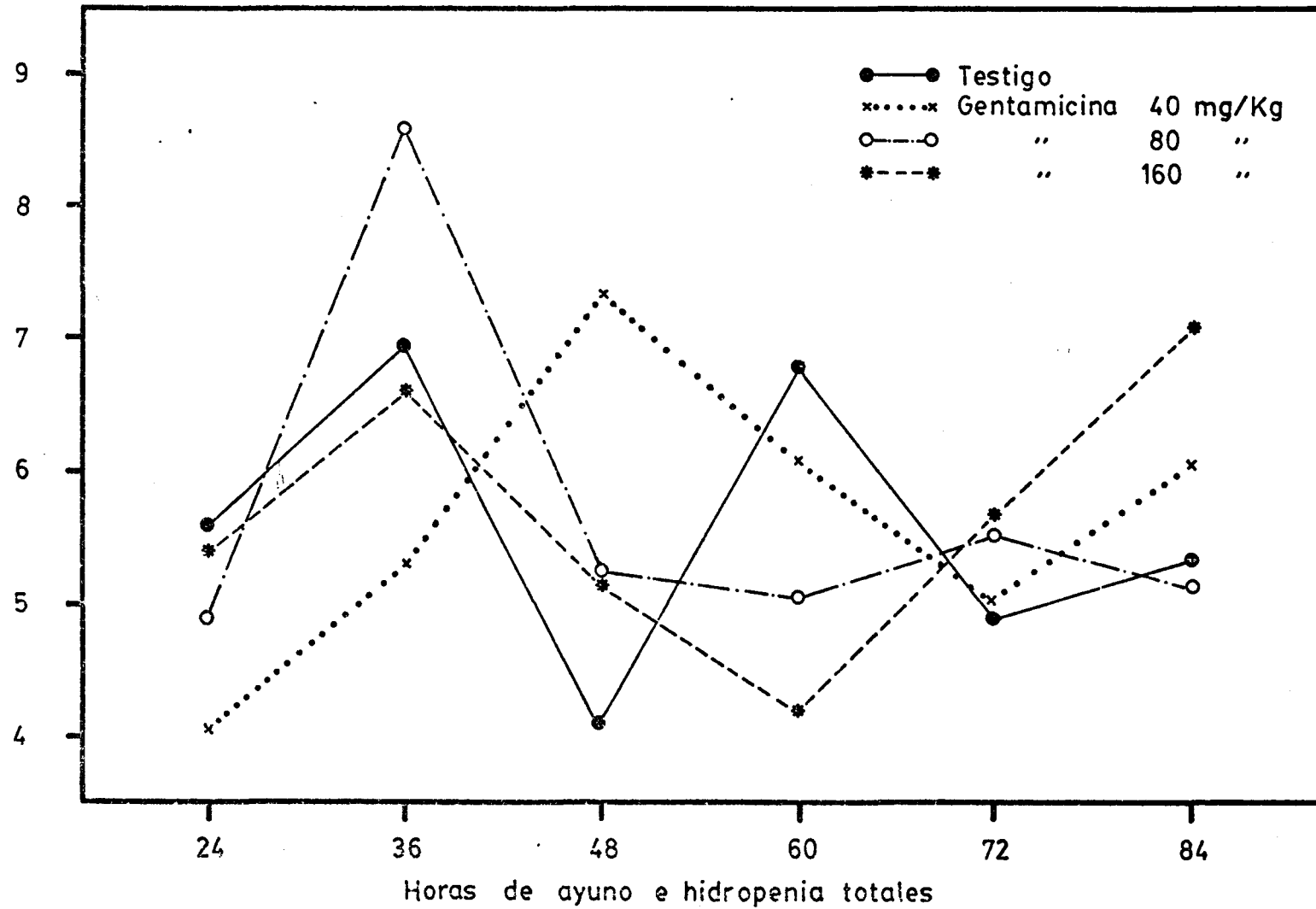


TABLA 14.- Potasio en sangre (m.mol/l) en ratas nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	5,88±1,66 (6)	7,80±2,10 (4)	5±0,91 (5)	6,07±1,05 (6)
36 horas	4,12±0,21 (5)	3,62±0,35 (6)	5,28±0,87 (5)	4,67±0,83 (6)
48 horas	4,10±0,68 (4)	4,56±0,96 (5)	4,13±0,41 (6)	5,38±1,20 (6)
60 horas	3,48±0,61 (5)	4,45±0,64 (6)	4,96±0,42 (5)	3,78±0,45 (6)
72 horas	5,47±0,42 (6)	7,83±1,32 (6)	6,18±0,86 (5)	6,14±1,11 (5)
84 horas	5±0,36 (3)	4,85±0,69 (4)	5,86±0,81 (5)	6,25±0,75 (6)



Evolución del Potasio en Sangre (mmoles/l) en ratas nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

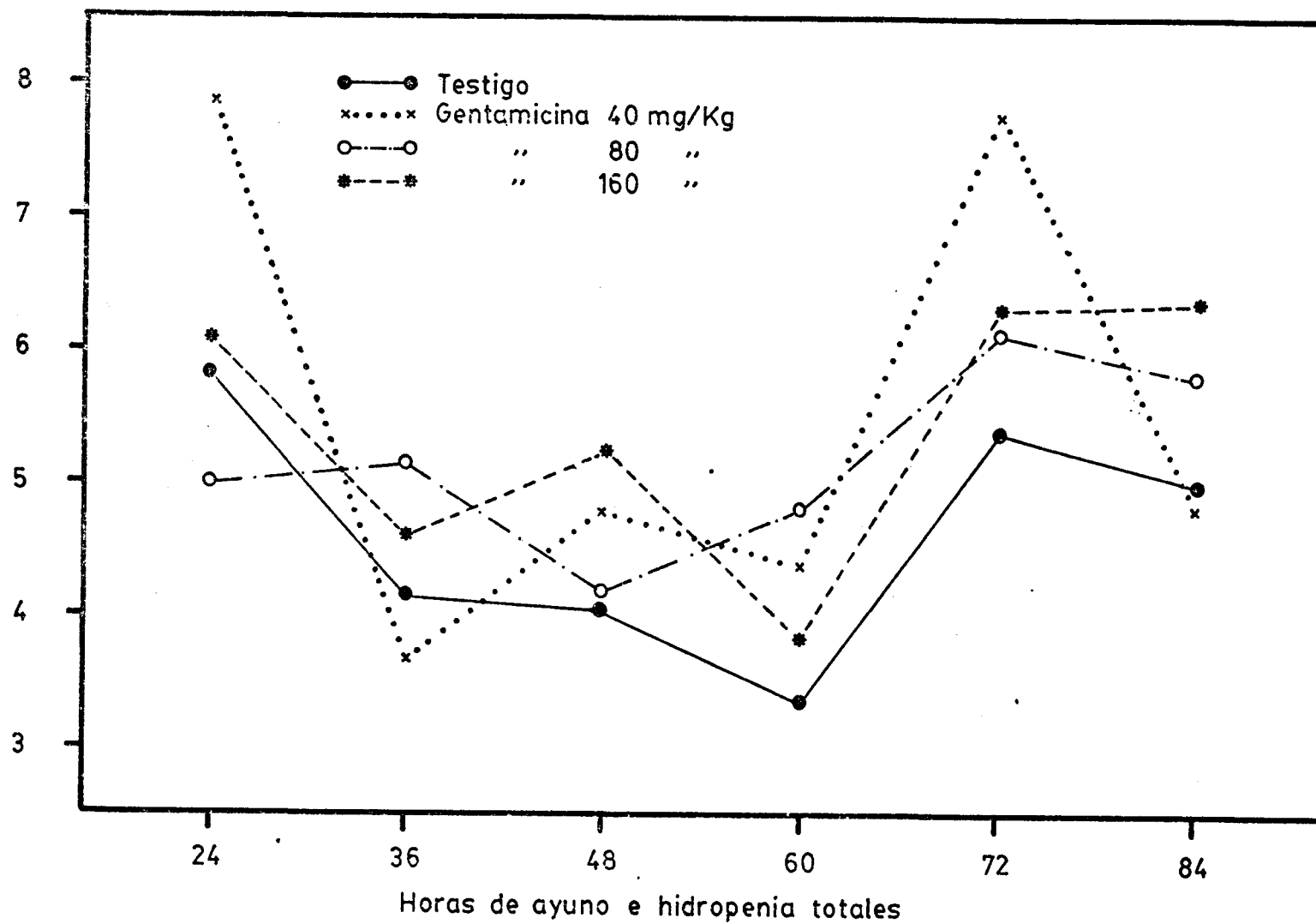


TABLA 15.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de Potasio en sangre en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	0,33	N.S
	Entre intervención	1	1,36	N.S
	Interacción	3	0,66	N.S
36 horas	Entre las dosis	3	0,62	N.S
	Entre intervención	1	4,24	P < 0,05
	Interacción	3	0,16	N.S
48 horas	Entre las dosis	3	1,49	N.S
	Entre intervención	1	1,83	N.S
	Interacción	3	1,28	N.S
60 horas	Entre las dosis	3	1,76	N.S
	Entre intervención	1	8,97	P < 0,01
	Interacción	3	2,44	N.S
72 horas	Entre las dosis	3	0,86	N.S
	Entre intervención	1	3,11	N.S
	Interacción	3	0,58	N.S
84 horas	Entre las dosis	3	0,74	N.S
	Entre intervención	1	0,19	N.S
	Interacción	3	0,49	N.S

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza(Snedecor)

TABLA 16.- Resultados del análisis estadístico de la variación de Potasio en sangre en función de la nefrectomía.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,08	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	0,085	N.S
	INTERACCION	15	0,80	N.S
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,64	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	4,34	P < 0,01
	INTERACCION	15	0,80	N.S

## SODIO EN SANGRE

1.- En función de las dosis, las no operadas, no hay diferencias significativas ni por dosis ni por tiempo.

2.- En las operadas si hay diferencias en función de las dosis, de tal manera que la sodemia aumenta en los animales tratados con Gentamicina, sin que aparezca relación dosis-efecto.

3.- Al comparar operadas con no operadas, tenemos que a las 24 horas no hay diferencias entre los dos grupos de animales pero a las 36 horas, si hay diferencias. En lo que se refiere a las dosis, hay un efecto significativo de la Gentamicina que hace aumentar la sodemia siendo máximo el aumento con la dosis mayor de Gentamicina. También la operación influye, ya que hay una disminución de la sodemia en las ratas nefrectomizadas y una interacción significativa entre dosis y operación que se hace ostensible con las dosis máximas en las ratas no nefrectomizadas, aunque lo tratemos con cierta prevención, ya que, en el grupo que sucede hay un escaso número de observaciones. Al comparar animales operados y no operados, hay diferencias significativas a las 60 horas, siendo mayor la cifra de sodio en sangre 143,6 en las no operadas y en las operadas de 133,4. A las 72 horas no hay diferencias significativas y a las 80 horas vuelve a existir una diferencia entre las dosis con una relación dosis-efecto con un aumento significativo de la sodemia como consecuencia de la acción dentro del fármaco. Los promedios generales

son 132,4 en excipiente, 143,2 en 40 mg/K, 146,5/cm 145,9 en 80 mg de 160 mg/K.

TABLA 17.- Sodio en sangre (m. mol/l) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempos progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	137,25±3,9 (4)	143,67±10,2 (3)	138,17±4,2 (6)	138,4±6,35 (5)
36 horas	139,40±4,38 (5)	145±5,19 (6)	133,75±9,52 (4)	174±14,49 (3)
48 horas	141±2,87 (6)	153,60±5,6 (5)	142,4±6,96 (5)	137,8±7,25 (5)
60 horas	143,6±3,26 (5)	140,83±5,41 (6)	151,5±6,71 (4)	143,5±4,24 (6)
72 horas	146,17±2,5 (6)	139,2±6,81 (5)	148,2±9,04 (5)	143,83±4,98 (6)
84 horas	133,67±3,17 (6)	154±7,95 (5)	146,5±1,47 (6)	146,33±2,31 (6)

# Evolución del Sodio en Sangre (umoles/l) en ratas no nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

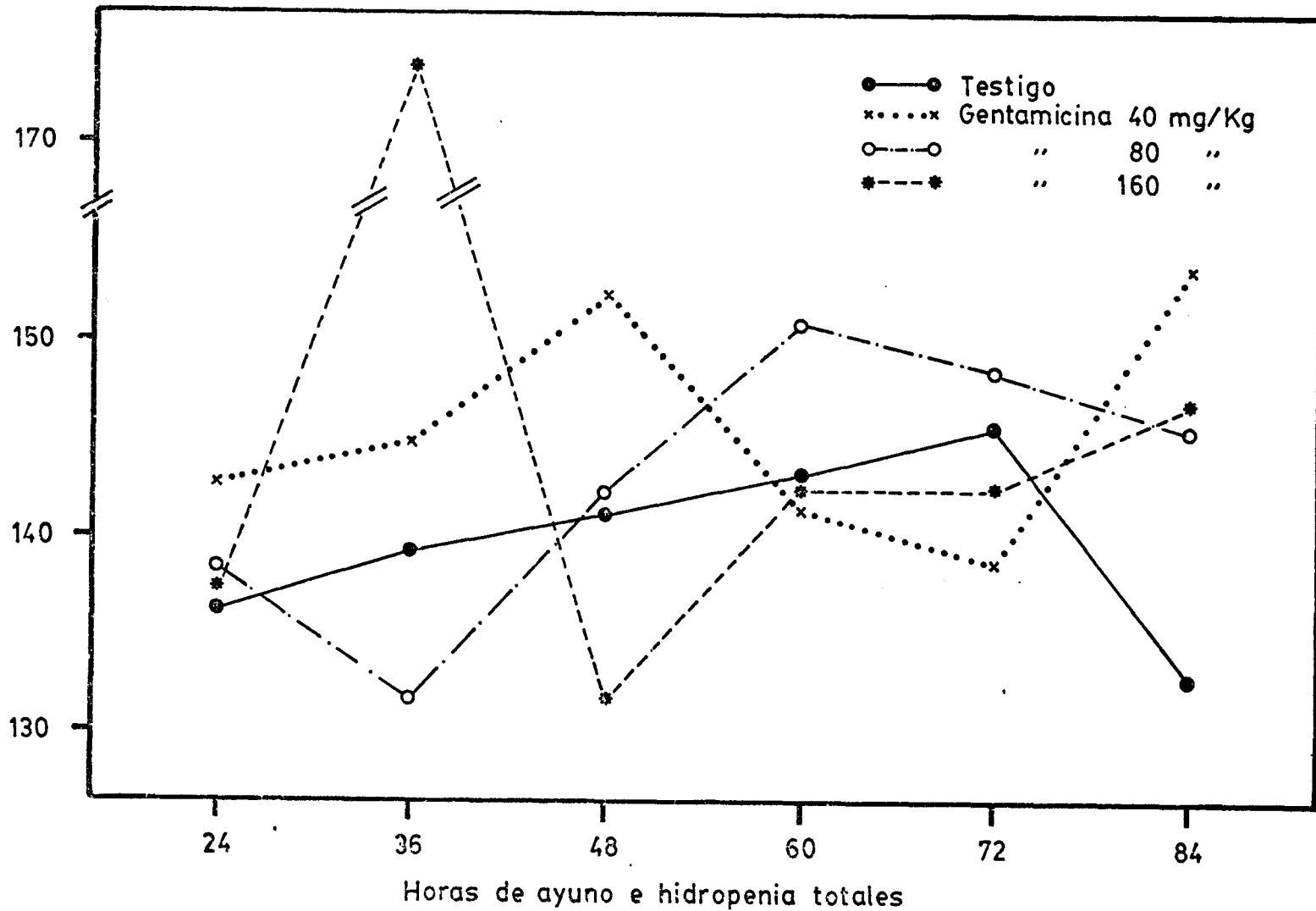


TABLA 18.- Sodio en sangre (mmol/l) en ratas nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	134,87±4,45 (6)	150±5,95 (4)	139,2±8,8 (5)	140,5±7,23 (6)
36 horas	134,4±6,09 (5)	139,5±1,28 (6)	132,2±4,37 (5)	141,5±1,47 (6)
48 horas	137,5±3,77 (4)	146,4±7,00 (5)	136,5±5,16 (6)	148,5±5,83 (6)
60 horas	126,2±5,61 (5)	144,83±2,71 (6)	142±2,16 (5)	134,67±5,3 (6)
72 horas	141,33±4,49 (6)	169,5±15,95 (6)	144,80±3,24 (5)	141±8,11 (5)
84 horas	130±2,88 (3)	129,75±2,95 (4)	145,2±5,75 (5)	146,67±8,05 (6)



Evolución del Sodio en Sangre (umoles/l) en ratas nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

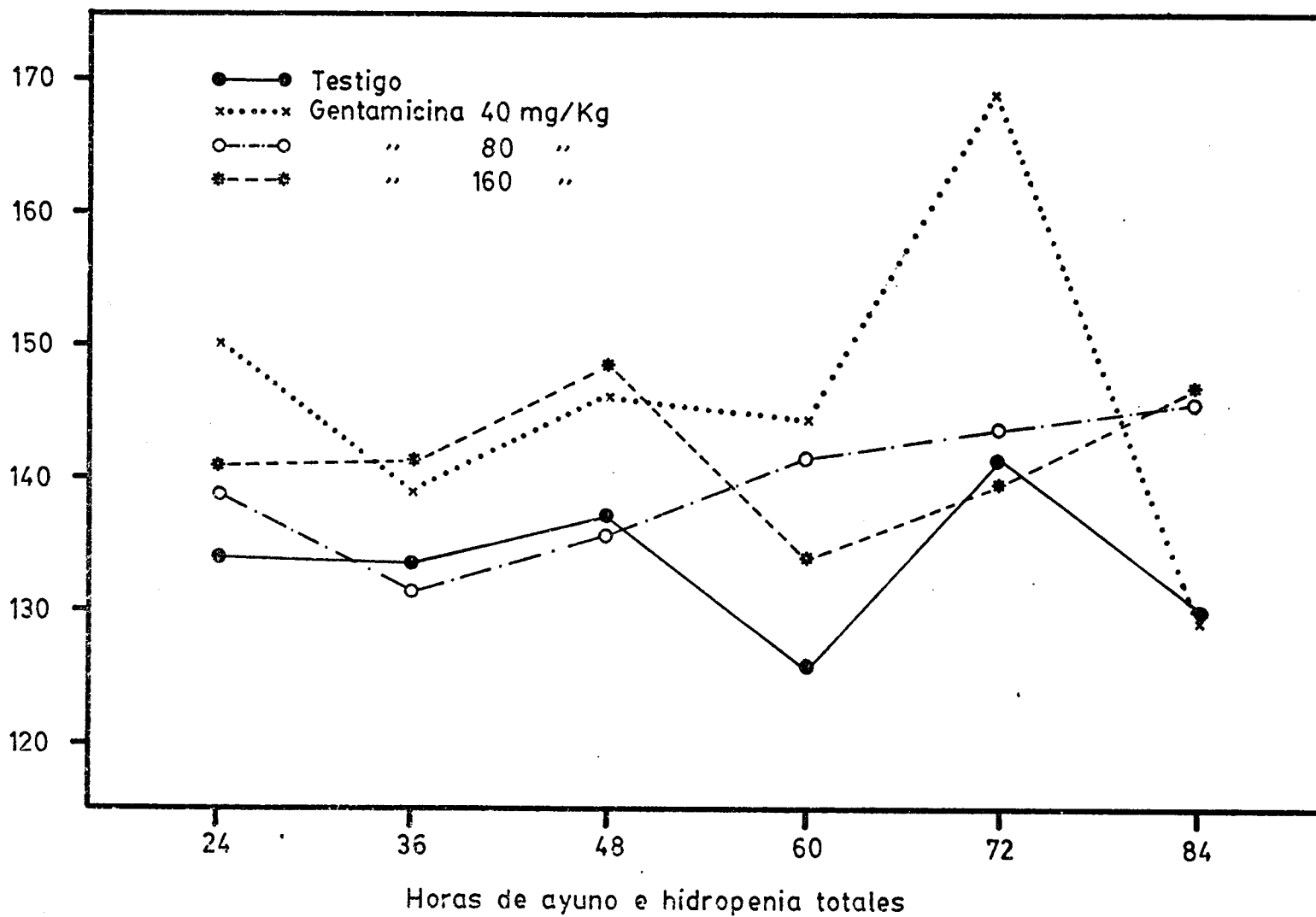


TABLA 19.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de Sodio en sangre en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	0,95	N.S
	Entre intervención	1	0,09	N.S
	Interacción	3	0,13	N.S
36 horas	Entre las dosis	3	5,32	$P < 0,01$
	Entre intervención	1	5,98	$P < 0,05$
	Interacción	3	4,29	$P < 0,01$ (?)
48 horas	Entre las dosis	3	1,49	N.S
	Entre intervención	1	0,07	N.S
	Interacción	3	1,07	N.S
60 horas	Entre las dosis	3	2,85	N.S
	Entre intervención	1	4,17	$P < 0,05$
	Interacción	3	1,11	N.S
72 horas	Entre las dosis	3	1,04	N.S
	Entre intervención	1	0,82	N.S
	Interacción	3	2,03	N.S
84 horas	Entre las dosis	3	2,98	$P < 0,05$
	Entre intervención	1	1,84	N.S
	Interacción	3	2,62	N.S

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza (Snedecor)

TABLA 20.- Resultados del análisis estadístico de la variación de Sodio en sangre en función de la nefrectomía.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	P
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	1,27	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	0,66	N.S
	INTERACCION	15	2,11	P < 0,05
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	3,65	P < 0,05
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	2,29	N.S
	INTERACCION	15	1,29	N.S

## FOSFATASA ALCALINA EN SANGRE

1.- Que hay un descenso rápido a las 36 horas de las - Fosfatasas alcalinas en sangre con recuperación a las 48 horas y menor descenso progresivo a las 60, 72 y 84 horas, (en función del tiempo, no de la dosis del fármaco) (en animales no operados).

2.- En los animales operados ocurre un fenómeno semejante existiendo un aumento a las 36 horas y una disminución a las 60 horas (en función del tiempo y no del fármaco).

3.- A las 24 horas, no hay diferencias significativas de Fosfatasas alcalinas entre los animales operados y no operados.

4.- A las 36 horas, comparando animales operados y no operados, existe una diferencia muy significativa entre los operados, cuyo promedio general es de 38,68 U/l y los no operados cuyo promedio es de 20,78 U/l.

5.- A las 48 horas sigue la diferencia significativa de tal manera que en las operadas es de 34,42 U/l y en las no operadas de 25,88 U/l.

6.- A las 60 horas se empiezan a nivelar y no son significativas.

7.- A las 72 horas, se ve una diferencia significativa, pero los valores están más normalizados siendo en las operadas de 26,01 U/l y en las no operadas 21,23 U/l.

8.- A las 84 horas hay diferencias significativas entre las operadas y las no operadas.

TABLA 21.- Fosfatasa alcalina en sangre (U/l) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	25,35±3,26 (4)	33,24±1,99 (3)	26,41±2,11 (6)	25,93±1,56 (5)
36 horas	20,27±2,66 (5)	17,91±1,86 (6)	18,93±1,67 (4)	29,36±1,78 (3)
48 horas	29,73±3,44 (6)	21,94±4,65 (5)	23,04±3,92 (5)	28,03±3,97 (5)
60 horas	23,71±2,91 (5)	21,14±2,25 (6)	25,34±3,24 (4)	21,42±1,92 (6)
72 horas	23,36±2,85 (6)	22,71±3,32 (4)	19,5±2,82 (5)	19,57±0,75 (6)
84 horas	23,45±3,34 (6)	22,71±1,50 (5)	19,20±1,51 (6)	17,63±2,25 (6)

Evolución de las Fosfatasas Alcalinas en Sangre (U/l) en ratas no nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

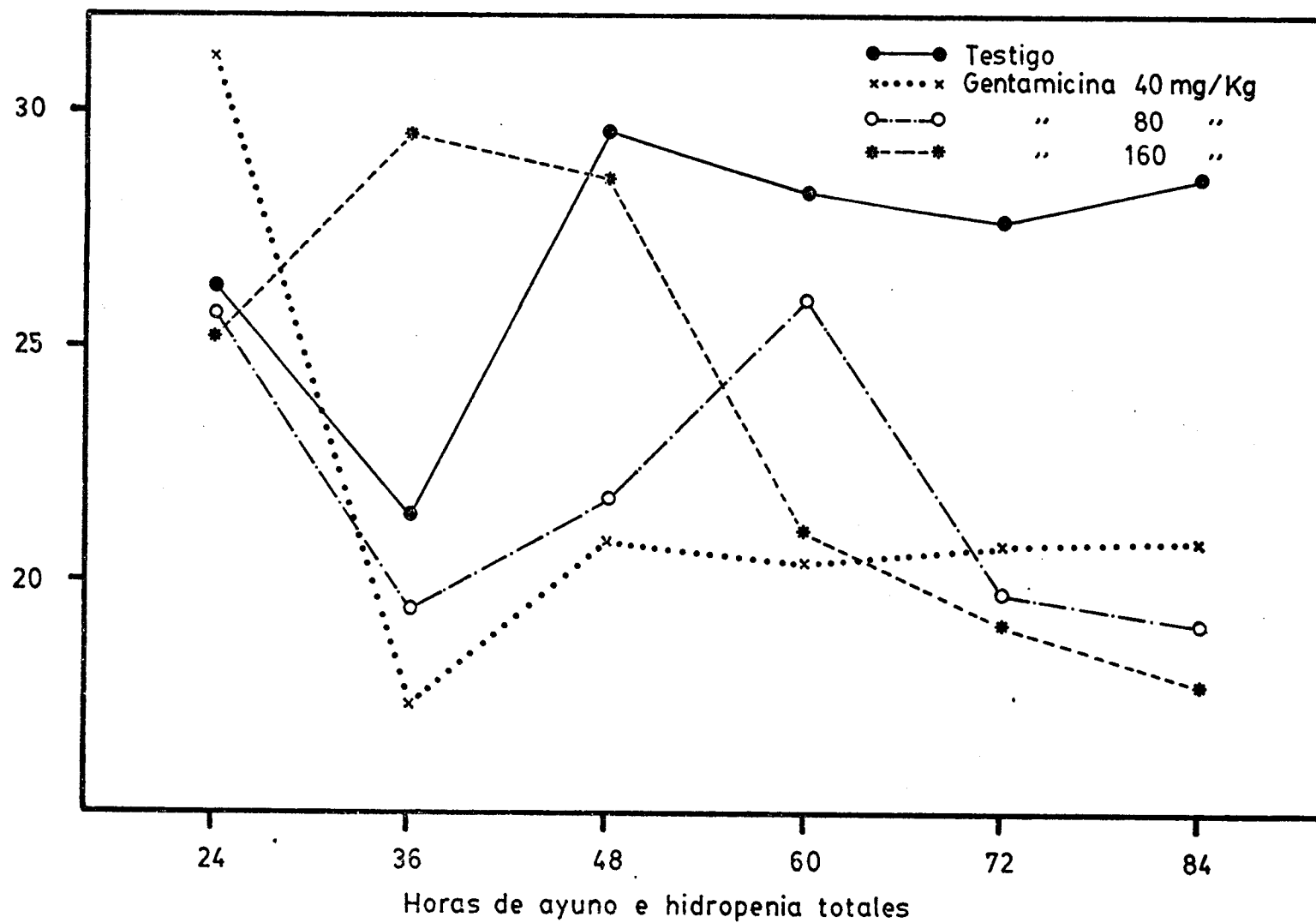


TABLA 22.- Fosfatasas alcalinas (U/l) en ratas nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivo.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	40,99±6,80 (6)	28,81±2,85 (4)	32,13±4,22 (5)	29,54±4,27 (6)
36 horas	36,89±6,02 (5)	42,47±8,21 (6)	35,46±2,82 (5)	39,05±10,94 (6)
48 horas	34,49±5,44 (4)	39,55±4,53 (5)	37,02±3,17 (6)	27,51±1,53 (6)
60 horas	24,52±4,39 (5)	24,65±3,97 (6)	26,29±3,71 (5)	28,25±5,89 (6)
72 horas	26,50±3,47 (6)	26,96±3,86 (6)	18,06±1,61 (5)	32,24±3,39 (5)
84 horas	25,46±0,37 (3)	24,51±1,11 (4)	34,9±10,11 (5)	26,68±3,75 (6)



Evolución de las Fosfatasa Alcalinas en Sangre (U/l) en ratas nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

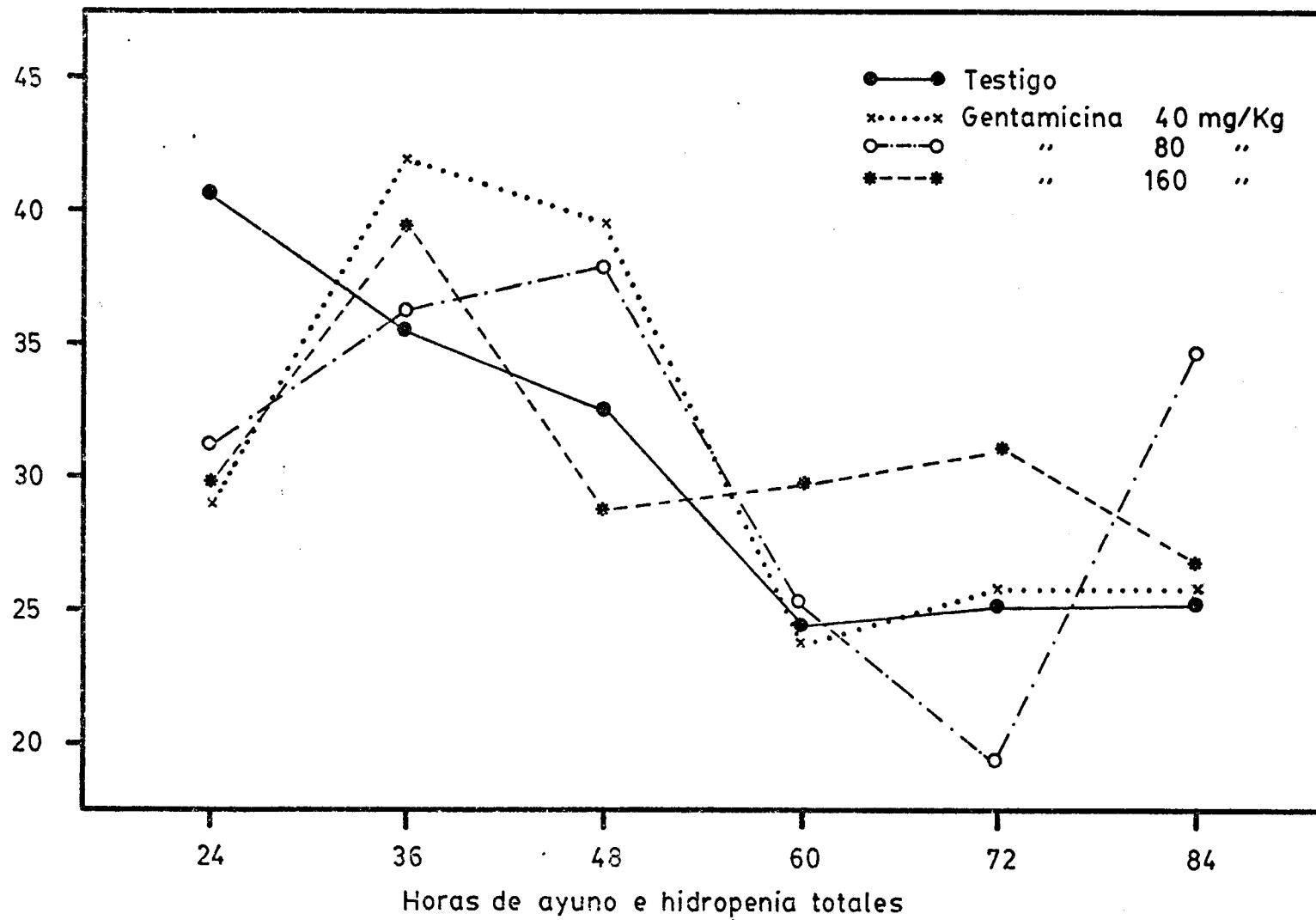


TABLA 23.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de la fosfatasa alcalina en sangre en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	1,06	N.S
	Entre intervención	1	4,12	N.S
	Interacción	3	1,45	N.S
36 horas	Entre las dosis	3	0,54	N.S
	Entre intervención	1	15,05	P<0,01
	Interacción	3	0,15	N.S
48 horas	Entre las dosis	3	0,41	N.S
	Entre intervención	1	10,21	P<0,01
	Interacción	3	2,65	N.S.
60 horas	Entre las dosis	3	0,23	N.S.
	Entre intervención	1	1,62	N.S.
	Interacción	3	0,24	N.S.
72 horas	Entre las dosis	3	2,22	N.S.
	Entre intervención	1	5,21	P<0,05
	Interacción	3	1,92	N.S.
84 horas	Entre las dosis	3	0,37	N.S.
	Entre intervención	1	6,01	P<0,05
	Interacción	3	1,30	N.S.

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza (Snedecor)

TABLA 24.- Resultado del análisis estadístico de la variación de la Fosfatasa alcalina en función de la nefrectomía.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,85	N.S.
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	4,04	P<0,01
	INTERACCION	15	1,41	N.S.
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,07	N.S.
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	3,72	P<0,05
	INTERACCION	15	0,86	N.S.

## PROTEINAS EN SANGRE

1.- Que las proteínas en sangre, no se modifican en ninguno de los grupos, ni con ninguna de las dosis utilizadas.

2.- Al comparar el grupo de operadas y no operadas en función de las dosis, nos encontramos con que la nefrectomía reduce la proteinemia de 6,64 en las sin nefrectomizar a 6,21 en las operadas a las 24 horas.

3.- También sucede lo mismo a las 36 horas, siendo los valores medios de 6,64 en las ratas sin nefrectomizar y 6,25 en las ratas con nefrectomía.

4.- A las 48 horas se sigue observando el mismo fenómeno siendo los valores de 6,71 en las no operadas y 6,34 en las ratas operadas.

5.- A partir de las 60, 72 y 84 horas, no hay diferencias significativas.

6.- Consideramos estas variaciones que son consecuencia del shock quirúrgico.

TABLA 25.- Proteínas en sangre (gr/l) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre perántesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	6,84±0,31 (4)	6,36±0,33 (3)	6,8±0,17 (6)	6,47±0,17 (5)
36 horas	6,67±0,28 (5)	6,96±0,24 (6)	5,98±0,45 (4)	6,84±0,14 (3)
48 horas	0,87±0,18 (6)	6,63±0,29 (5)	6,61±0,19 (5)	6,72±0,17 (5)
60 horas	6,63±0,09 (5)	6,55±0,13 (6)	6,6±0,49 (4)	6,63±0,13 (6)
72 horas	6,65±0,21 (6)	6,89±0,41 (5)	6,70±0,25 (5)	6,22±0,19 (6)
84 horas	6,32±0,27 (6)	6,86±0,13 (5)	6,68±0,18 (6)	6,7±0,16 (6)

Evolución de la Proteinemia (gr/100ml) en ratas no nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

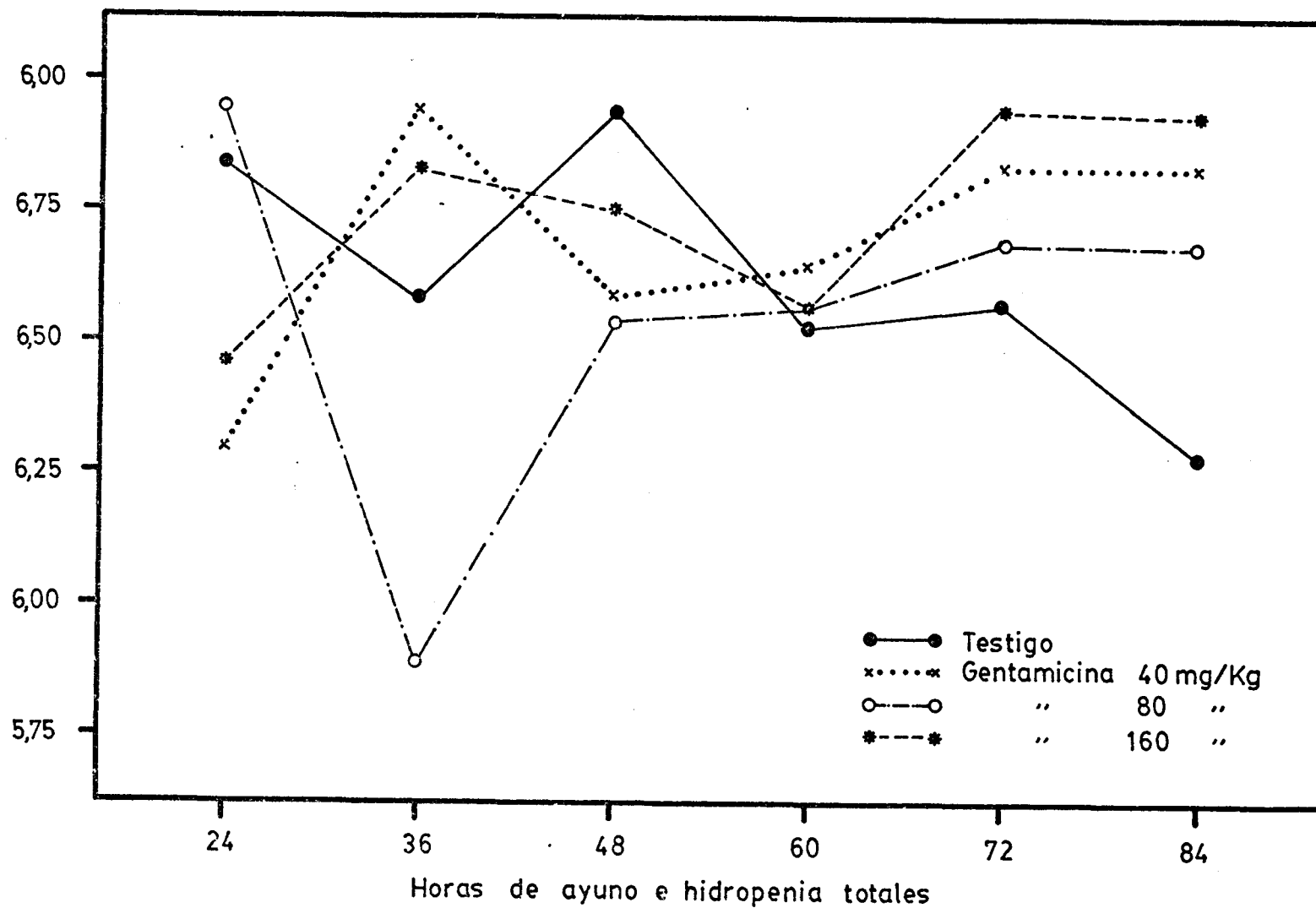


TABLA 26.- Proteínas en sangre (gr/l) en ratas nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	6,25±0,13 (6)	5,96±0,16 (4)	6,23±0,23 (5)	6,31±0,09 (6)
36 horas	6,40±0,19 (5)	6,22±0,11 (6)	6,17±0,11 (5)	6,15±0,18 (6)
48 horas	6,65±0,23 (4)	6,46±0,19 (5)	6,35±0,17 (6)	6,03±0,02 (6)
60 horas	6,55±0,10 (5)	6,36±0,22 (6)	6,65±0,33 (5)	6,01±0,26 (6)
72 horas	6,38±0,41 (6)	6,47±0,22 (6)	6,25±0,15 (5)	6,38±0,20 (5)
84 horas	6,08±0,09 (3)	6,10±0,45 (4)	6,32±0,25 (5)	6,6±0,18 (6)

Evolución de la Proteinemia (gr/100 ml) en ratas nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

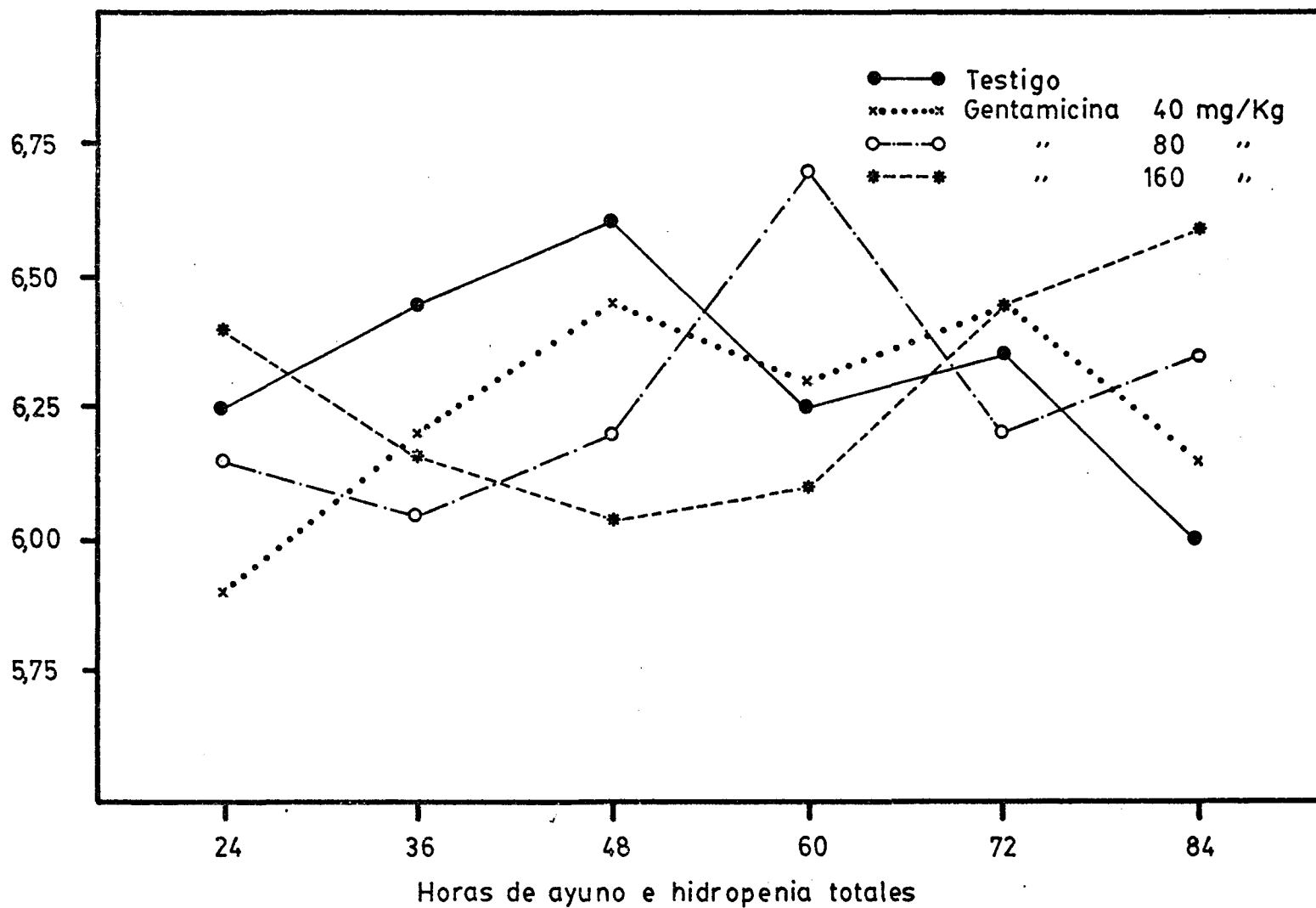




TABLA 27.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de Proteínas en sangre en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	1,42	N.S.
	Entre intervención	1	9,96	p<0,01
	Interacción	3	0,40	N.S.
36 horas	Entre las dosis	3	1,89	N.S.
	Entre intervención	1	6,40	p<0,05
	Interacción	3	1,50	N.S.
48 horas	Entre las dosis	3	1,85	N.S.
	Entre intervención	1	7,76	p<0,01
	Interacción	3	0,36	N.S.
60 horas	Entre las dosis	3	0,71	N.S.
	Entre intervención	1	1,91	N.S.
	Interacción	3	0,83	N.S.
72 horas	Entre las dosis	3	0,58	N.S.
	Entre intervención	1	1,32	N.S.
	Interacción	3	0,56	N.S.
84 horas	Entre las dosis	3	1,07	N.S.
	Entre intervención	1	3,32	N.S.
	Interacción	3	0,97	N.S.

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza (Snedecor)

TABLA 28.- Resultados del análisis estadístico de la variación de Proteínas en sangre en función de la nefrectomía.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,53	N.S.
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	0,12	N.S.
	INTERACCION	15	1,15	N.S.
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,50	N.S.
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	0,44	N.S.
	INTERACCION	15	0,91	N.S.

## BILIRRUBINA EN SANGRE

- 1.- Sin hacer nefrectomia, la bilirrubina total en sangre, no sufre modificaciones significativas.
- 2.- Si hay nefrectomia, la bilirrubina no sufre modificaciones significativas.
- 3.- A las 74 horas, se aprecia una tendencia significativa de aumento de la bilirrubina en sangre en los animales de altas dosis, sin que haya diferencia entre los animales nefrectomizados y no nefrectomizados.

TABLA 29.- Bilirrubina en sangre (mg%) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	6,46±1,26 (4)	10,93±2,60 (2)	10,36±1,76 (5)	4,62±0,77 (5)
36 horas	5,55±1,16 (5)	9,68±1,42 (6)	7,40±0,53 (3)	9,03±1,95 (3)
48 horas	7,06±1,69 (6)	5,73±0,98 (5)	7,58±1,14 (5)	11,14±6,23 (5)
60 horas	5,55±1,30 (5)	8,91±1,40 (6)	7,86±1,43 (4)	8,32±1,96 (6)
72 horas	7,24±1,05 (6)	6,94±2,02 (5)	8,14±0,88 (5)	4,62±0,75 (6)
84 horas	4,62±1,43 (5)	8,88±2,47 (5)	8,94±1,05 (6)	5,5±0,95 (4)

Evolución de la Bilirrubina total (umoles/l) en ratas  
no nefrectomizadas,  $\bar{x}$   $\pm$  S.E.M. (N=6)

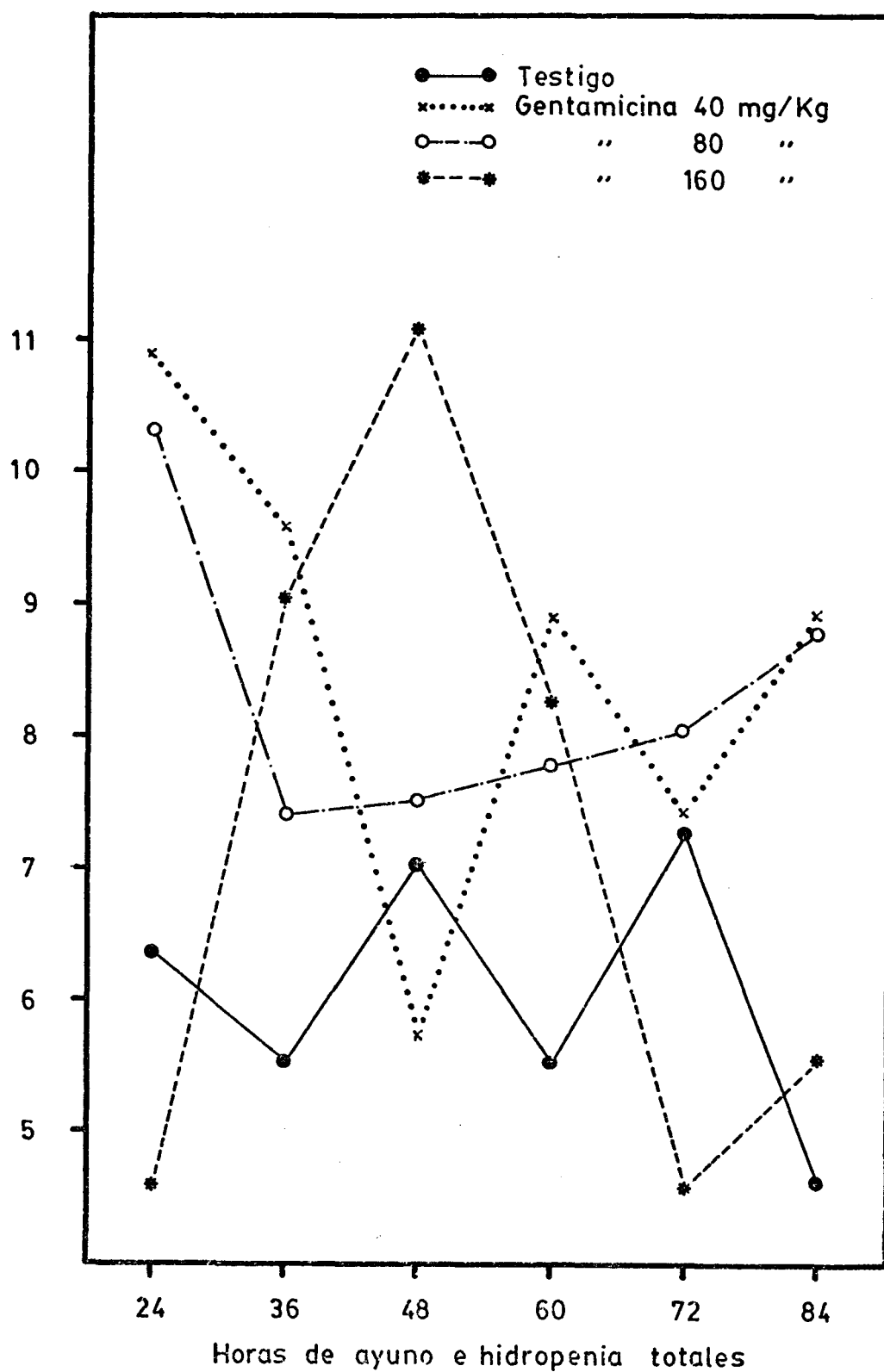


TABLA 30.- Bilirrubina en sangre (mg%) en ratas nefrectomizadas sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total en periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	7,21±1,21 (6)	6,71±1,57 (4)	8,27±2,54 (5)	10,17±1,87 (6)
36 horas	7,44±2,34 (5)	7,86±1,08 (6)	5,18±1,07 (5)	6,94±2,32 (6)
48 horas	8,09±3,18 (4)	7,95±2,35 (5)	6,94±1,66 (6)	11,25±2,12 (6)
60 horas	10,73±1,64 (5)	4,90±1,12 (6)	7,58±1,28 (5)	5,95±1,12 (6)
72 horas	6,94±1,89 (6)	6,47±1,06 (5)	9,06±1,74 (5)	5,18±0,95 (5)
84 horas	3,24±1,38 (2)	7,86±1,53 (4)	8,79±3,51 (4)	5,36±0,18 (5)

Evolución de la Bilirrubina total (umoles/l) en ratas  
nefrectomizadas.  $\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

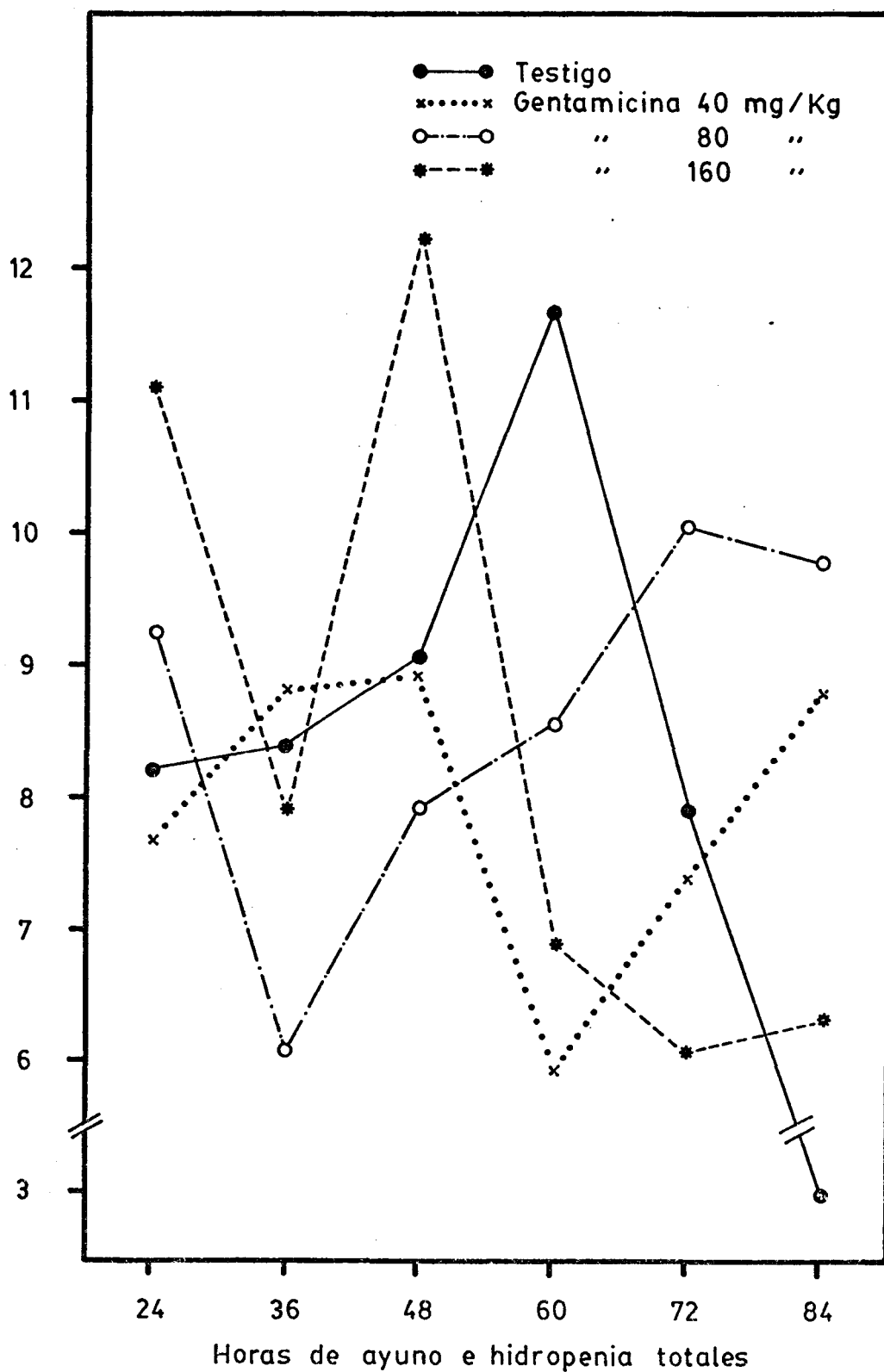


TABLA 31.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de Bilirrubina en sangre en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	0,71	N.S
	Entre intervención	1	0,19	N.S
	Interacción	3	2,72	N.S
36 horas	Entre las dosis	3	1,08	N.S
	Entre intervención	1	0,73	N.S
	Interacción	3	0,61	N.S
48 horas	Entre las dosis	3	1,11	N.S
	Entre intervención	1	0,17	N.S
	Interacción	3	0,08	N.S
60 horas	Entre las dosis	3	0,29	N.S
	Entre intervención	1	0,38	N.S
	Interacción	3	3,77	P < 0,05
72 horas	Entre las dosis	3	2,42	N.S
	Entre intervención	1	0,06	N.S
	Interacción	3	0,11	N.S
84 horas	Entre las dosis	3	3,00	P < 0,05
	Entre intervención	1	0,15	N.S
	Interacción	3	0,07	N.S

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza(Snedecor)



TABLA 32.- Resultados del análisis estadístico de la variación de Bilirrubina en sangre en función de la nefrectomía.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	1,84	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	0,26	N.S
	INTERACCION	15	0,95	N.S
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,25	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	0,79	N.S
	INTERACCION	15	1,23	N.S

## DIURESIS

(Medida en mililitros por fracción de 12 horas)

1.- Ratas no nefrectomizadas, el tratamiento no influye en función de la dosis sobre la diuresis.

2.- Se reduce significativamente el volumen emitido, ya a partir de las 24 horas pero la diferencia es significativa a partir de las 36 horas (en las no operadas).

3.- En las operadas, los valores están muy parejos, pero hay disminución de la diuresis.

4.- Al comparar los dos grupos de animales, a las 24 horas no hay diferencias, tampoco a las 36 horas y si a las 48 horas, ya que las cifras de diuresis son claramente inferiores en las no operadas, que es de 1,75 ml/12 horas, de promedio general y 2,60 ml/12 h en las operadas. A las 60 horas, se sigue viendo el fenómeno pero no es significativo. En la administración de fármacos a las 72 horas, se aprecia que la administración de fármacos conduce a una elevación discreta de la diuresis, sin que haya interacción con la intervención quirúrgica. A las 84 horas, vuelve a existir una diferencia significativa de las ratas operadas que es mayor 1,46, que las no operadas que es de 1,02.

TABLA 33.-

DIURESIS (ml./12h.) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.-

$\bar{x} \pm$  S.E.M. Entre parentesis, número de observaciones.-

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	3,08±0,41 (6)	3,65±0,62 (6)	3,75±0,34 (6)	2,78±0,42 (6)
36 horas	1,68±0,33 (6)	1,94±0,34 (6)	2,21±0,47 (6)	1,82±0,56 (6)
48 horas	1,48±0,32 (6)	1,85±0,25 (6)	1,79±0,22 (6)	1,93±0,41 (6)
60 horas	1,31±0,29 (5)	1,33±0,32 (6)	1,16±0,23 (6)	1,24±0,17 (6)
72 horas	1,35±0,16 (6)	2,06±0,32 (6)	1,82±0,32 (6)	1,77±0,19 (6)
84 horas	0,89±0,24 (6)	1,43±0,15 (5)	0,78±0,06 (6)	1,04±0,18 (5)

Evolución de la Diuresis media (ml/12 h) en ratas no nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

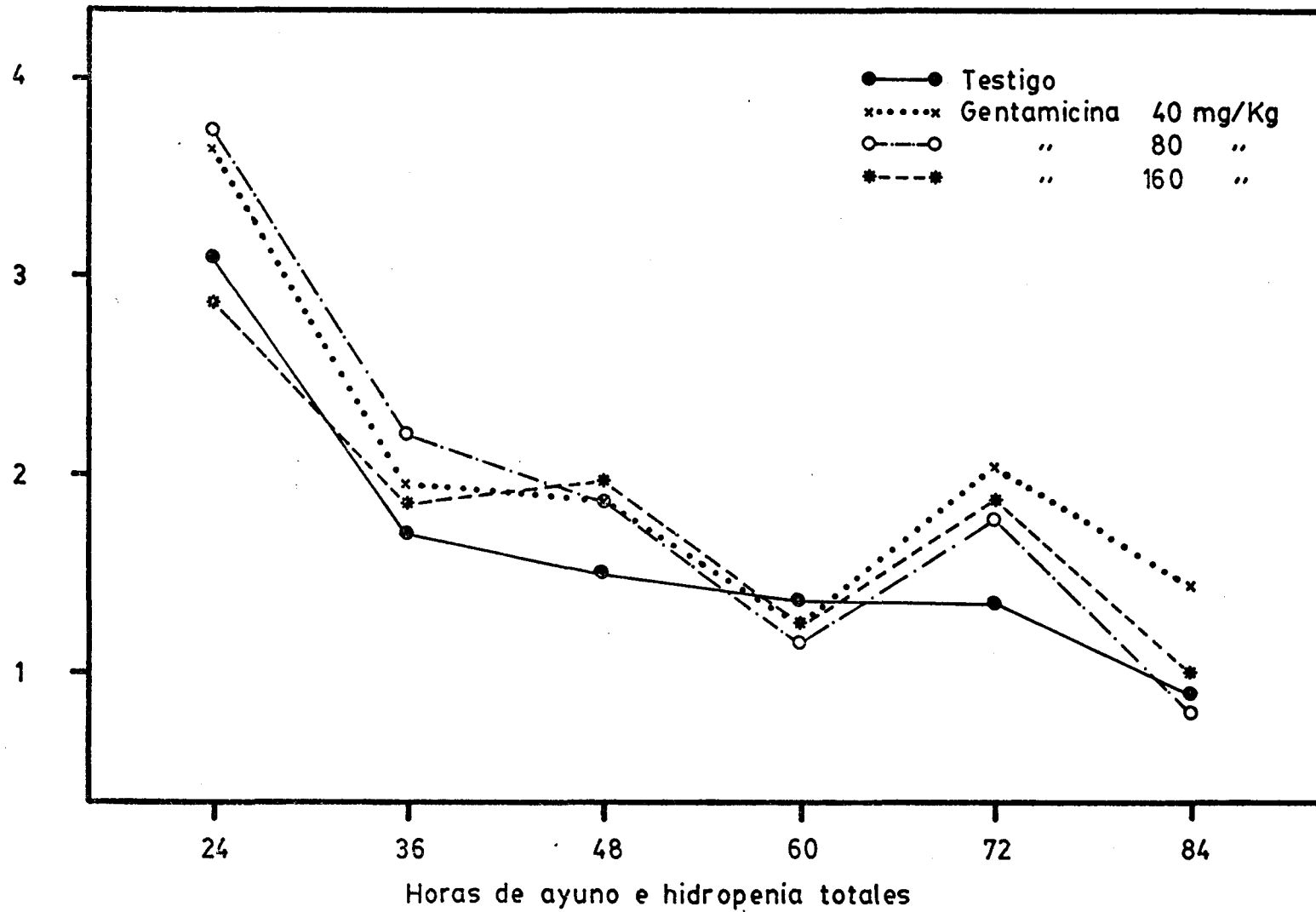


TABLA 34.- Diuresis (ml/12 h) en ratas nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total en periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	3,65±0,97 (6)	3,48±0,74 (6)	3,95±0,78 (6)	3,30±0,38 (6)
36 horas	1,18±0,27 (6)	1,80±0,44 (5)	1,95±0,39 (6)	1,65±0,23 (6)
48 horas	2,75±0,11 (6)	2,83±0,39 (6)	2,45±0,25 (6)	2,37±0,31 (6)
60 horas	1,26±0,21 (6)	1,51±0,13 (6)	1,51±0,36 (6)	1,66±0,30 (6)
72 horas	1,33±0,12 (6)	2,17±0,29 (6)	1,98±0,33 (6)	1,90±0,35 (6)
84 horas	1,60±0,22 (6)	1,41±0,28 (6)	1,50±0,31 (6)	1,29±0,36 (5)

Evolución de la Diuresis media (ml/12 h) en ratas nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

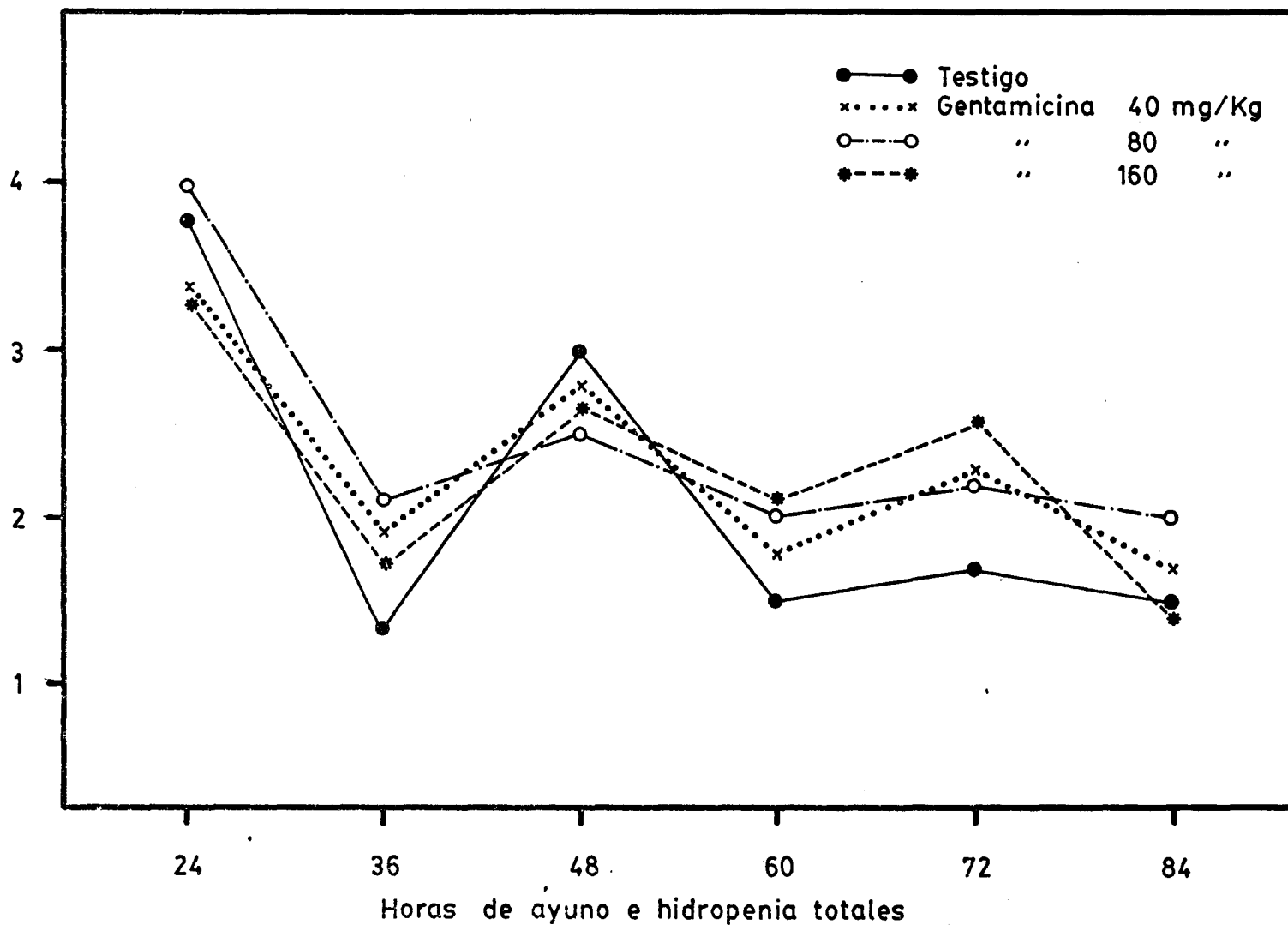


TABLA 35.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de la Diuresis en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	0,60	N.S
	Entre intervención	1	0,42	N.S
	Interacción	3	0,15	N.S
36 horas	Entre las dosis	3	0,98	N.S
	Entre intervención	1	0,96	N.S
	Interacción	3	0,08	N.S
48 horas	Entre las dosis	3	0,26	N.S
	Entre intervención	1	15,98	P<0,01
	Interacción	3	0,78	N.S
60 horas	Entre las dosis	3	0,17	N.S
	Entre intervención	1	3,42	N.S
	Interacción	3	0,32	N.S
72 horas	Entre las dosis	3	2,87	P<0,05
	Entre intervención	1	0,25	N.S
	Interacción	3	0,04	N.S
84 horas	Entre las dosis	3	0,55	N.S
	Entre intervención	1	6,58	P<0,05
	Interacción	3	1,04	N.S

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza(Snedecor)

TABLA 36.- Resultados del análisis estadístico de la variación de la Diuresis en función de la nefrectomía.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	P
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	1,69	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	22,44	P<0,01
	INTERACCION	15	0,51	N.S
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,58	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	17,10	P<0,01
	INTERACCION	15	0,38	N.S



## SODIO EN ORINA

Hay diferencia en lo que se refiere a fármaco y a tiempo.

Fármaco.- Hay un incremento de la disminución de sodio, en dosis dependientes, que es significativamente distinto del que corresponde a los animales tratados con excipientes y en lo que corresponde a tiempo, la excreción es máxima a las 24 horas y mínima a las 84 horas.

Existe una interacción significativa entre dosis de Gentamicina y tiempo de estudio.

La excreción nueva de sodio corresponde a los acúmulos de 24 horas de absorción, tratados con excipientes.

Existe una interacción significativa en la retención de sodio por parte de aquellos animales con mayor integridad de la nefrona, es decir, en los tratados con excipientes. Existe una acción tóxica del fármaco en relación con el metabolismo del sodio.

En los nefrectomizados, hay un aumento en la excreción de sodio que no es dosis dependiente y en cuanto al tiempo, hay un descenso en la excreción de sodio siendo máxima esta excreción a las 24 horas.

Comparando los dos grupos, hay diferencias significativas a las 48 horas en el sentido de que es mayor en los animales nefrectomizados a las 48 horas.

A las 72 horas se aprecia tambien que hay un efecto dentro de la Gentamicina que hace aumentar la excreción de sodio en relación con los animales tratados con excipiente, sin que haya relación dosis-efecto y fundamentalmente a las 84 horas, vuelve a aparecer una diferencia significativa en la excreción de sodio, en los animales nefrectomizados (es mayor en las operadas).

TABLA 37.- Sodio en orina ( $\mu\text{mol/h}$ ) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	0,27 $\pm$ 0,06 (6)	0,33 $\pm$ 0,05 (6)	0,45 $\pm$ 0,07 (6)	0,29 $\pm$ 0,04 (6)
36 horas	0,23 $\pm$ 0,02 (6)	0,24 $\pm$ 0,01 (6)	0,27 $\pm$ 0,06 (6)	0,28 $\pm$ 0,07 (6)
48 horas	0,16 $\pm$ 0,03 (6)	0,26 $\pm$ 0,02 (6)	0,19 $\pm$ 0,01 (6)	0,25 $\pm$ 0,04 (6)
60 horas	0,19 $\pm$ 0,02 (5)	0,20 $\pm$ 0,03 (6)	0,17 $\pm$ 0,01 (6)	0,19 $\pm$ 0,03 (6)
72 horas	0,15 $\pm$ 0,02 (6)	0,27 $\pm$ 0,03 (6)	0,22 $\pm$ 0,03 (6)	0,26 $\pm$ 0,02 (6)
84 horas	0,11 $\pm$ 0,02 (6)	0,18 $\pm$ 0,03 (5)	0,12 $\pm$ 0,01 (6)	0,16 $\pm$ 0,03 (4)

Evolución de la Natriuresis (umoles/12 h) en ratas no nefrectomizadas.  $\bar{x}$   $\pm$  S.E.M. (N=6)

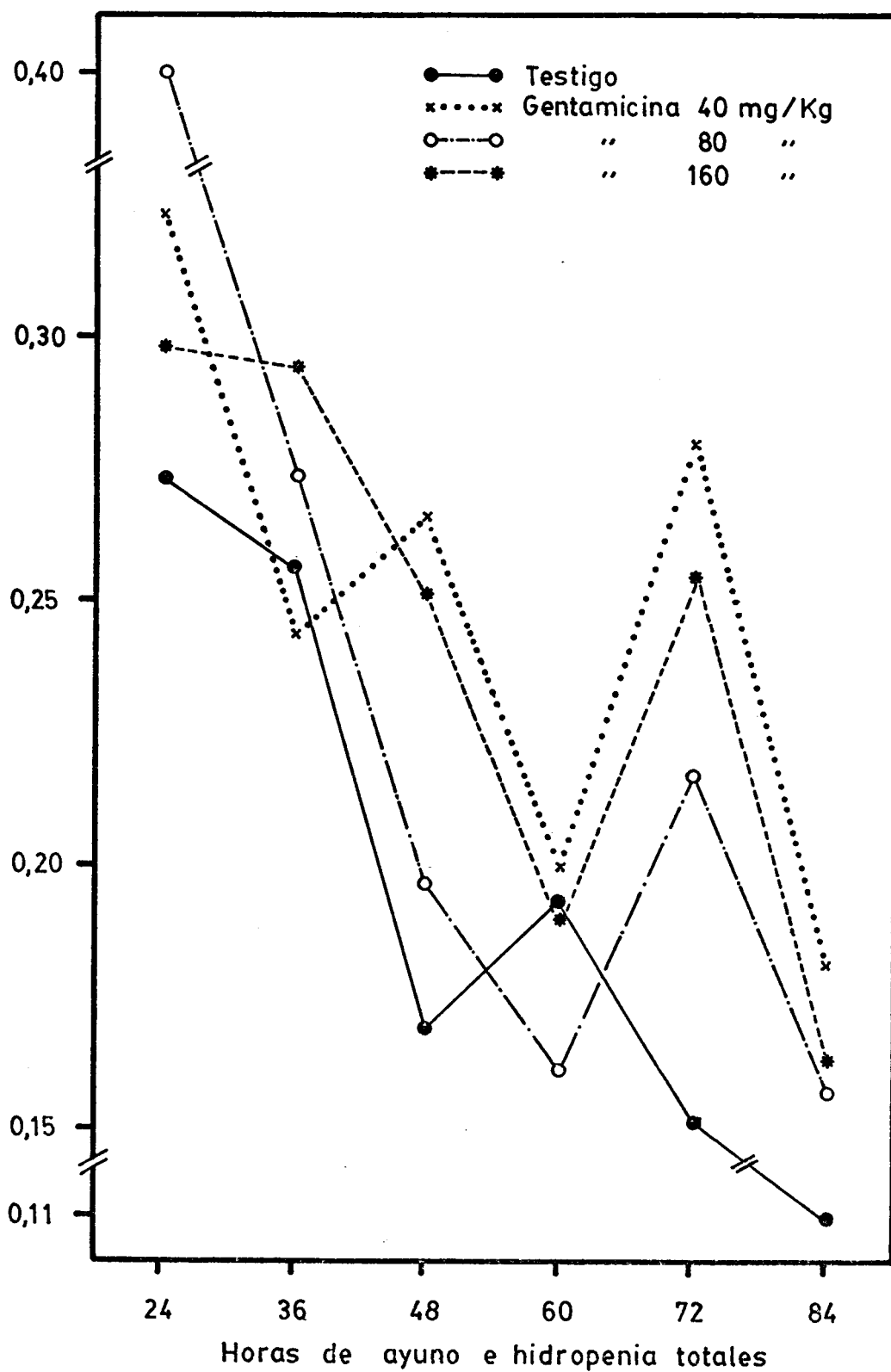


TABLA. 38.- Sodio en orina (umol/h) en ratas nefrectomizadas sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	0,28±0,05 (6)	0,37±0,07 (6)	0,04±0,08 (6)	0,32±0,03 (6)
36 horas	0,18±0,04 (6)	0,23±0,02 (5)	0,25±0,03 (6)	0,58±0,01 (6)
48 horas	0,30±0,02 (6)	0,30±0,03 (6)	0,27±0,03 (6)	0,22±0,02 (6)
60 horas	0,16±0,03 (6)	0,21±0,00 (6)	0,20±0,03 (6)	0,18±0,01 (6)
72 horas	0,15±0,01 (6)	0,23±0,01 (6)	0,24±0,03 (6)	0,22±0,02 (6)
84 horas	0,21±0,03 (5)	0,21±0,02 (6)	0,19±0,02 (6)	0,19±0,03 (5)

Evolución de la Natriuresis (umoles/12 h) en ratas nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

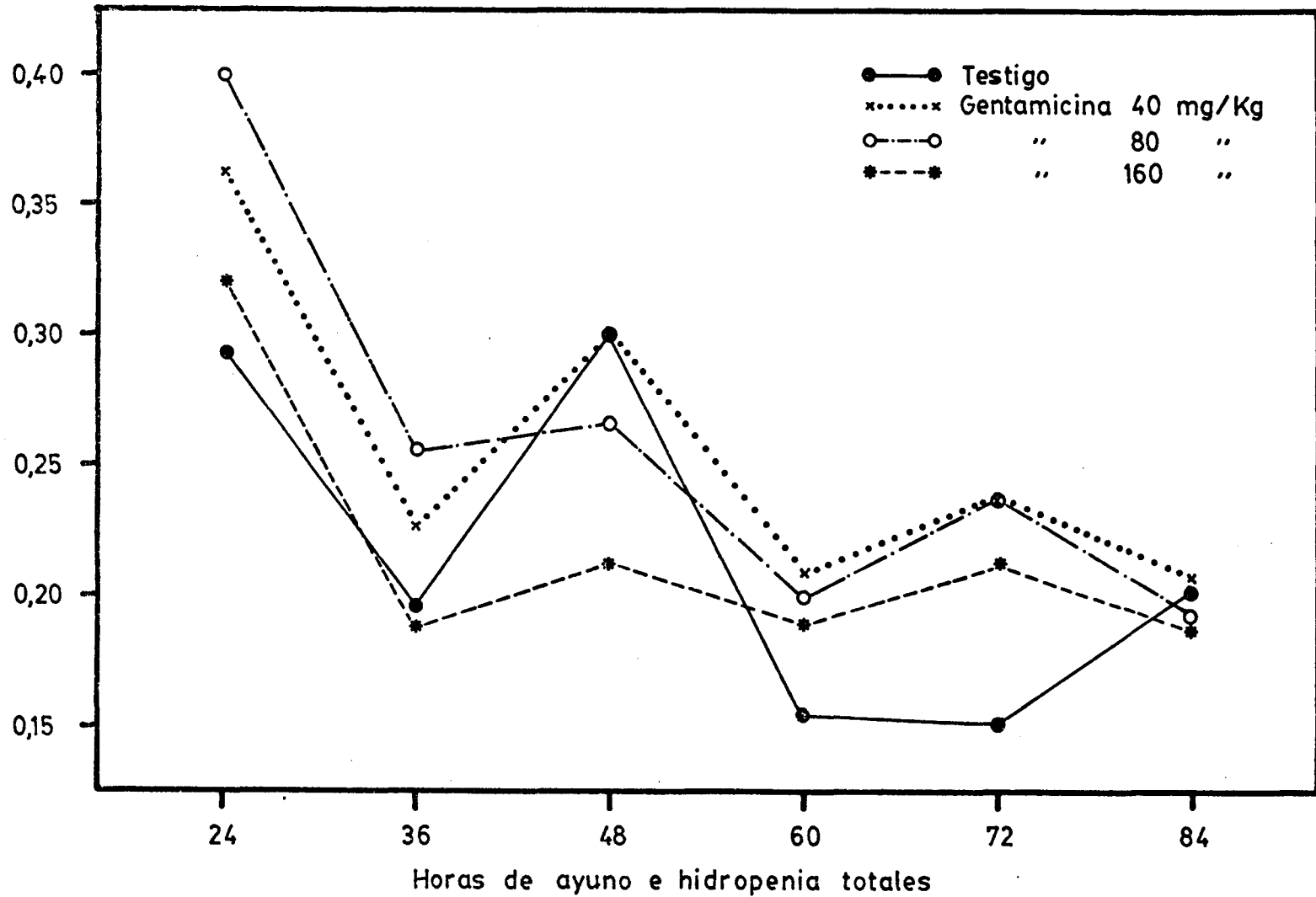


TABLA 39.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de Sodio en orina en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	2,30	N.S
	Entre intervención	1	0,02	N.S
	Interacción	3	0,18	N.S
36 horas	Entre las dosis	3	0,67	N.S
	Entre intervención	1	2,05	N.S
	Interacción	3	0,47	N.S
48 horas	Entre las dosis	3	1,28	N.S
	Entre intervención	1	6,22	P < 0,05
	Interacción	3	2,55	N.S
60 horas	Entre las dosis	3	0,41	N.S
	Entre intervención	1	0,00	N.S
	Interacción	3	0,41	N.S
72 horas	Entre las dosis	3	5,42	P < 0,01
	Entre intervención	1	0,47	N.S
	Interacción	3	0,68	N.S
84 horas	Entre las dosis	3	0,97	N.S
	Entre intervención	1	7,74	P < 0,01
	Interacción	3	0,63	N.S

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza (Snedecor)

TABLA 40.- Resultados del análisis estadístico de la variación de sodio en orina en función de la nefrectomía.  
Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	P
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	2,94	$P < 0,05$
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	10,41	$P < 0,01$
	INTERACCION	15	5,13	$P < 0,01$
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	2,81	$P < 0,05$
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	10,22	$P < 0,01$
	INTERACCION	15	0,63	N.S



## CLORUROS EN ORINA

En las no nefrectomizadas hay diferencias significativas entre las dosis y los tiempos.

Entre las dosis tenemos el siguiente fenómeno: un aumento de la excreción de cloruros que no sigue una relación dosis-efecto, en comparación con el excipiente.

En cuanto al tiempo, tenemos una disminución de la excreción de cloruros de tipo progresivo.

En las nefrectomizadas ocurre lo mismo, existe un incremento de la excreción de cloruros, que no es dosis dependiente y una disminución en función del tiempo.

En cuanto a la operación y no operación, no hay diferencias a las 24 h, si hay diferencia a las 36 h, en el sentido de que la disminución de cloruros es menor en el grupo de operadas.

A las 48 h, solo hay un comportamiento desigual entre las dosis y una tendencia significativa a incrementar la eliminación de cloruros, a las 48 h, que sin embargo, no es dosis dependiente,

A las 60 h y a las 72 h observamos que la eliminación de cloruros es significativamente distinta siendo menor en el grupo de ratas nefrectomizadas.

TABLA 41.- Cloruros en orina ( $\mu\text{mol/h}$ ) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	0,41 $\pm$ 0,07 (6)	0,47 $\pm$ 0,06 (6)	0,58 $\pm$ 0,03 (6)	0,42 $\pm$ 0,07 (6)
36 horas	0,27 $\pm$ 0,04 (6)	0,3 $\pm$ 0,01 (6)	0,36 $\pm$ 0,07 (6)	0,39 $\pm$ 0,10 (5)
48 horas	0,21 $\pm$ 0,02 (6)	0,33 $\pm$ 0,04 (6)	0,26 $\pm$ 0,02 (6)	0,32 $\pm$ 0,05 (6)
60 horas	0,20 $\pm$ 0,04 (5)	0,23 $\pm$ 0,04 (5)	0,14 $\pm$ 0,02 (5)	0,21 $\pm$ 0,03 (5)
72 horas	0,19 $\pm$ 0,01 (6)	0,33 $\pm$ 0,04 (6)	0,24 $\pm$ 0,04 (6)	0,33 $\pm$ 0,02 (6)
84 horas	0,19 $\pm$ 0,04 (4)	0,20 $\pm$ 0,03 (5)	0,15 $\pm$ 0,02 (3)	0,20 $\pm$ 0,04 (4)

Evolución de la Cloruresis (mmoles/12 h) en ratas no nefrectomizadas.  $\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

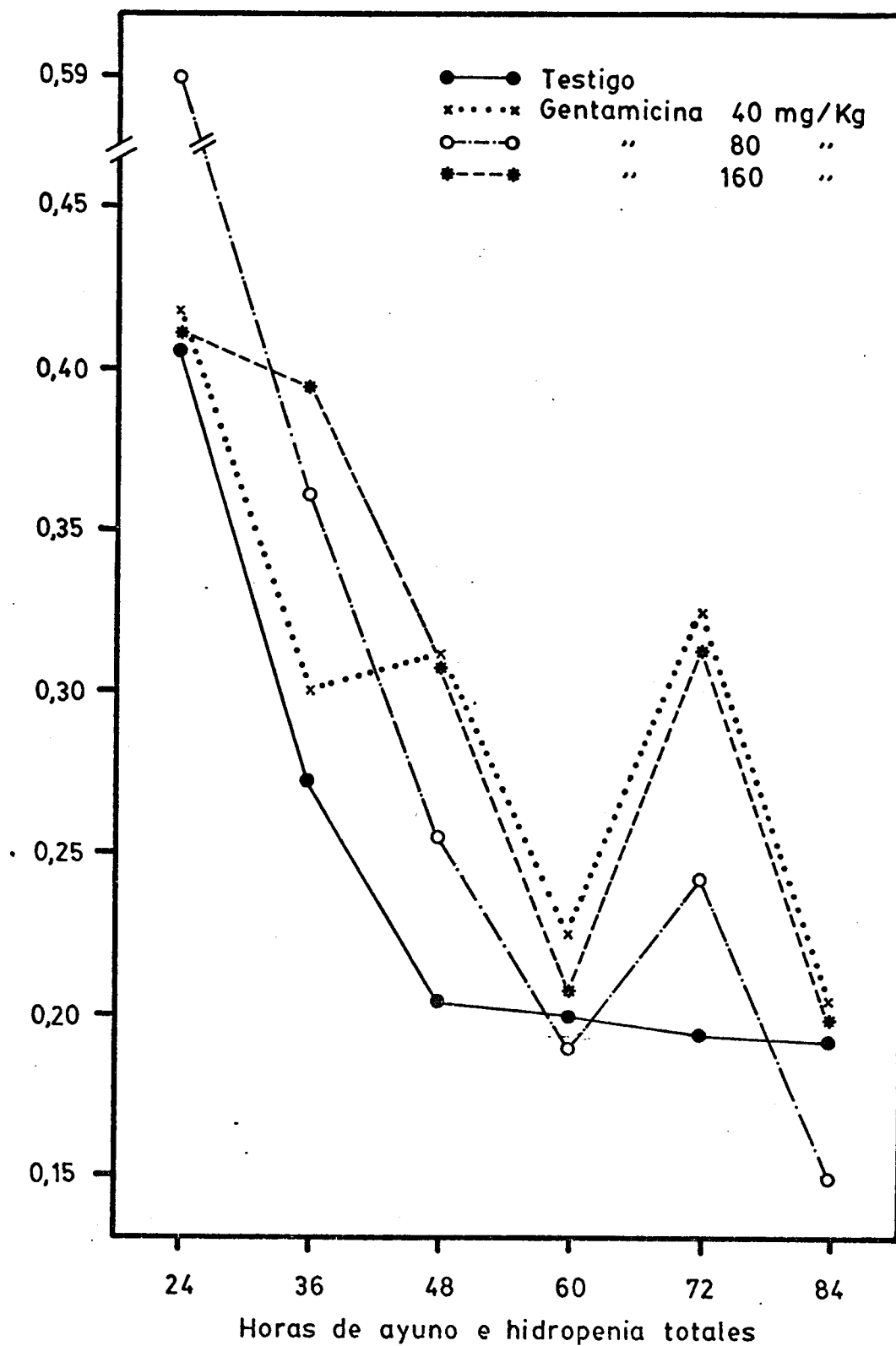


TABLA 42.- Cloruros en orina ( $\mu\text{mol/h}$ ) en ratas nefrectomizadas sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	0,30 $\pm$ 0,05 (6)	0,40 $\pm$ 0,07 (6)	0,5 $\pm$ 0,10 (6)	0,41 $\pm$ 0,05 (6)
36 horas	0,18 $\pm$ 0,03 (5)	0,27 $\pm$ 0,03 (5)	0,28 $\pm$ 0,02 (6)	0,22 $\pm$ 0,02 (6)
48 horas	0,27 $\pm$ 0,02 (6)	0,37 $\pm$ 0,03 (6)	0,27 $\pm$ 0,04 (6)	0,27 $\pm$ 0,02 (6)
60 horas	0,16 $\pm$ 0,03 (6)	0,24 $\pm$ 0,02 (6)	0,21 $\pm$ 1,06 (5)	0,21 $\pm$ 0,03 (6)
72 horas	0,17 $\pm$ 0,01 (6)	0,27 $\pm$ 0,01 (6)	0,28 $\pm$ 0,03 (6)	0,27 $\pm$ 0,02 (6)
84 horas	0,20 $\pm$ 0,03 (5)	0,21 $\pm$ 0,03 (6)	0,24 $\pm$ 0,01 (4)	0,23 $\pm$ 0,03 (4)

Evolución de la Cloruresis (mmoles/12 h) en ratas nefrectomizadas  
 $\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

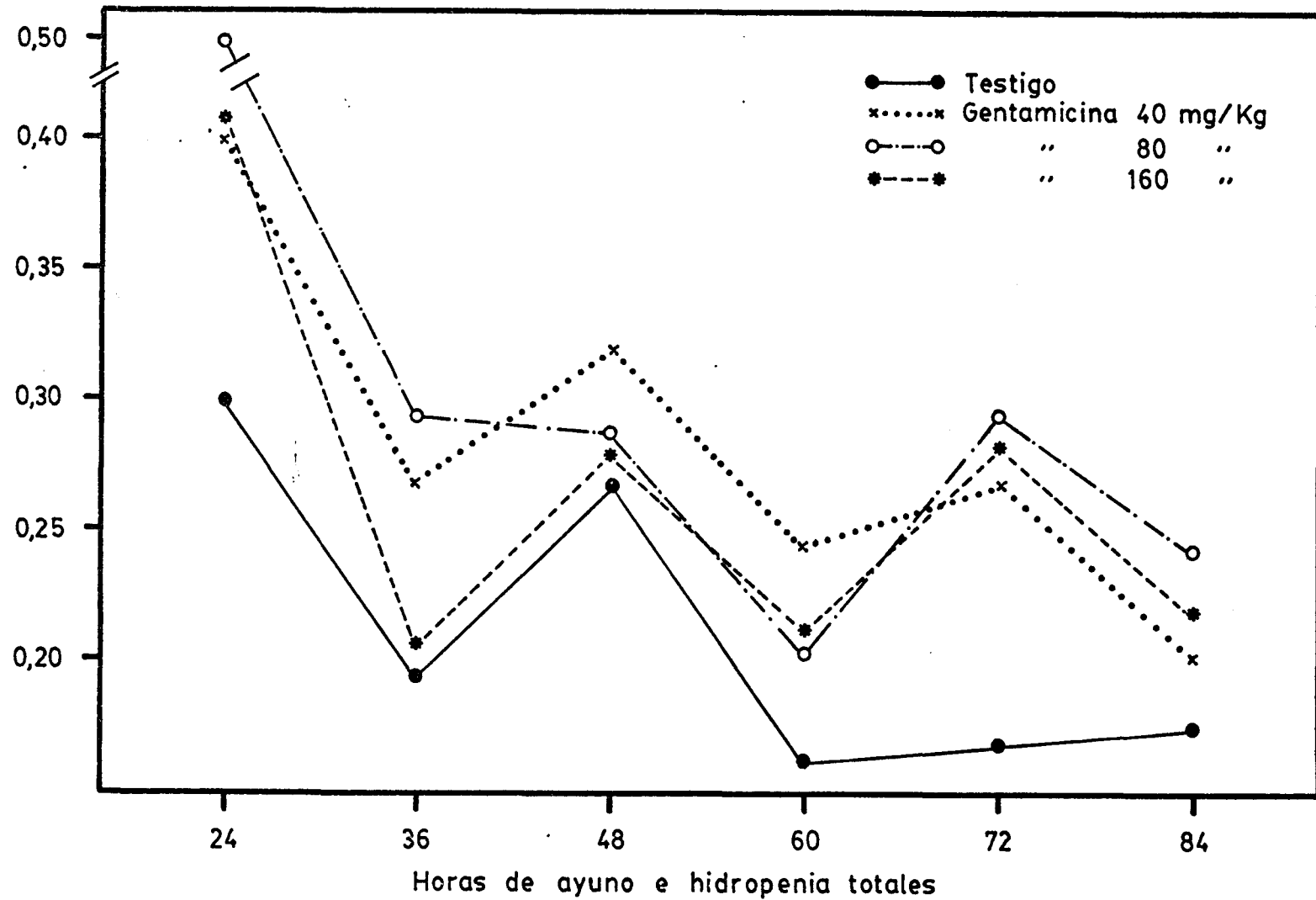


TABLA 43.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de Cloruros en orina en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	2,44	N.S
	Entre intervención	1	1,74	N.S
	Interacción	3	0,16	N.S
36 horas	Entre las dosis	3	1,17	N.S
	Entre intervención	1	5,50	$P < 0,05$
	Interacción	3	0,68	N.S
48 horas	Entre las dosis	3	3,40	$P < 0,05$
	Entre intervención	1	0,24	N.S
	Interacción	3	0,94	N.S
60 horas	Entre las dosis	3	0,81	N.S
	Entre intervención	1	0,00	N.S
	Interacción	3	0,24	N.S
72 horas	Entre las dosis	3	8,16	$P < 0,01$
	Entre intervención	1	1,18	N.S
	Interacción	3	1,28	N.S
84 horas	Entre las dosis	3	0,13	N.S
	Entre intervención	1	1,54	N.S
	Interacción	3	0,53	N.S

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza(Snedecor)

TABLA 44.- Resultados del análisis estadístico de la variación de Cloruros en orina en función de la nefrectomía.  
Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	2,81	$P < 0,05$
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	15,95	$P < 0,01$
	INTERACCION	15	0,99	N.S
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	4,96	$P < 0,01$
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	11,37	$P < 0,01$
	INTERACCION	15	0,69	N.S

## POTASIO EN ORINA

En el grupo de ratas no nefrectomizadas, en función del tiempo disminuye a partir de las 36 horas, pero ya se mantiene dentro de sus niveles, más o menos iguales.

En las nefrectomizadas, los valores son muy semejantes, no es tampoco tiempo dependiente.

La comparación entre grupos, operadas y no operadas, se ve que la disminución de potasio es significativamente mayor en las nefrectomizadas, con valores medios de 0,356 mmol/12 horas contra 0,26 mmol/12 horas de las no nefrectomizadas.

A las 60 horas, se sigue comprobando el mismo fenómeno, hay menor excreción de potasio en las nefrectomizadas y que vuelve a ser significativo a las 84 horas.

Hay un aumento de la excreción de potasio en las nefrectomizadas.



TABLA 45.- Potasio en orina (umol/h) en ratas no nefrectomizadas sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuna e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	0,50±0,09 (6)	0,42±0,07 (6)	0,39±0,06 (6)	0,44±0,03 (6)
36 horas	0,18±0,03 (6)	0,23±0,04 (5)	0,32±0,06 (6)	0,30±0,03 (6)
48 horas	0,35±0,01 (6)	0,41±0,04 (6)	0,36±0,04 (6)	0,31±0,05 (6)
60 horas	0,24±0,03 (6)	0,26±0,02 (6)	0,24±0,03 (6)	0,29±0,04 (6)
72 horas	0,29±0,02 (6)	0,29±0,04 (6)	0,28±0,04 (6)	0,25±0,04 (6)
84 horas	0,28±0,02 (5)	0,22±0,02 (6)	0,24±0,03 (6)	0,20±0,03 (5)

Evolución de la Kaliuria (mmol/12 h) en ratas no ne  
frectomizadas.  $\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

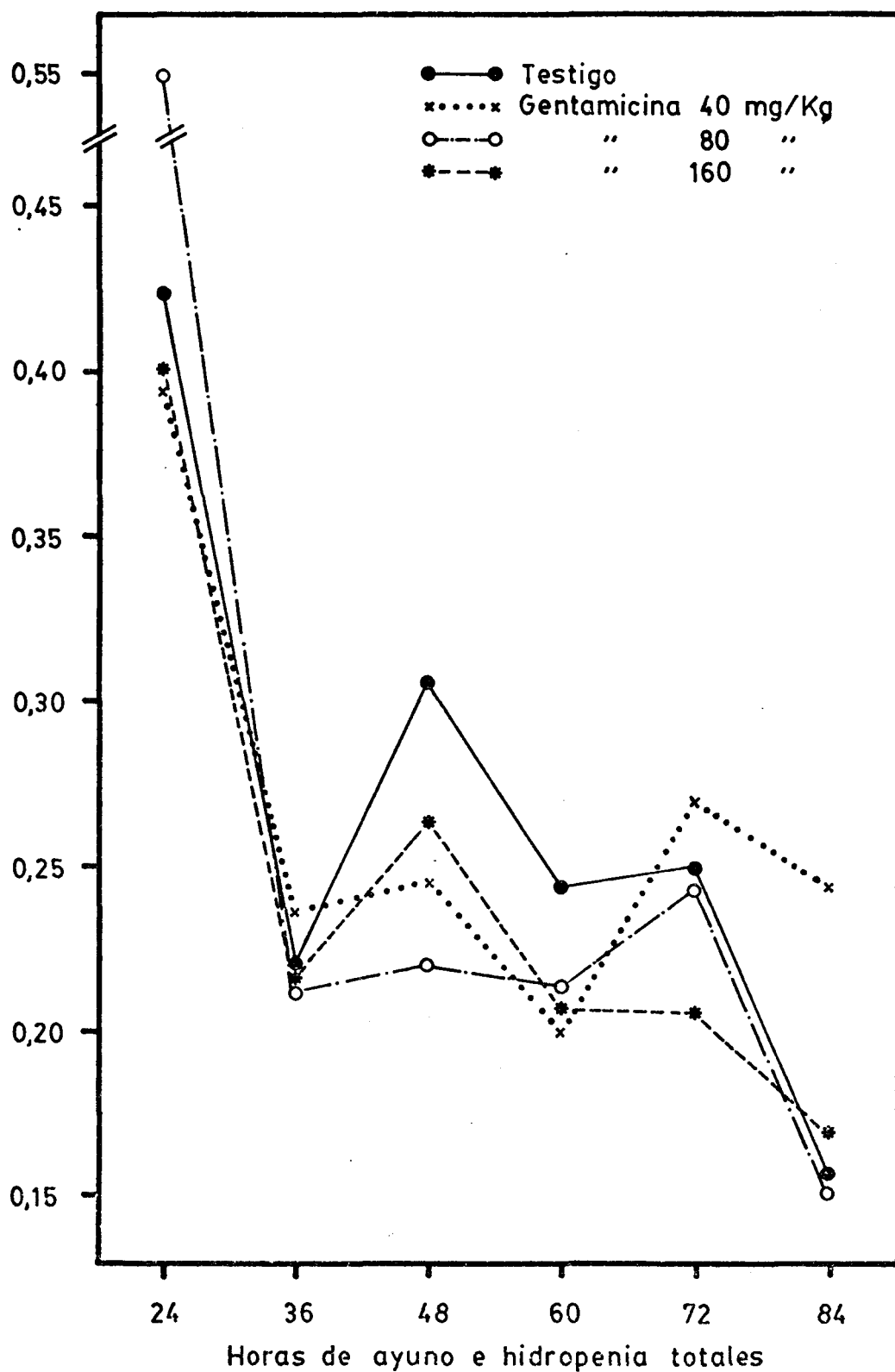


TABLA 46.- Potasio en orina (umol/h) en ratas nefrectomizadas sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	0,42±0,7 (6)	0,37±0,05 (6)	0,55±0,06 (6)	0,39±0,06 (6)
36 horas	0,22±0,04 (6)	0,23±0,02 (6)	0,22±0,02 (6)	0,22±0,03 (6)
48 horas	0,31±0,05 (6)	0,24±0,04 (6)	0,22±0,03 (6)	0,27±0,03 (6)
60 horas	0,24±0,03 (5)	0,20±0,03 (6)	0,21±0,01 (6)	0,21±0,01 (6)
72 horas	0,25±0,02 (6)	0,27±0,03 (6)	0,24±0,03 (6)	0,28±0,02 (6)
84 horas	0,16±0,03 (6)	0,24±0,04 (5)	0,15±0,00 (6)	0,18±0,02 (4)

Evolución de la Kaliuria (mmol/12 h) en ratas nefrectomizadas.  $\bar{x}$  S.E.M. (N=6).

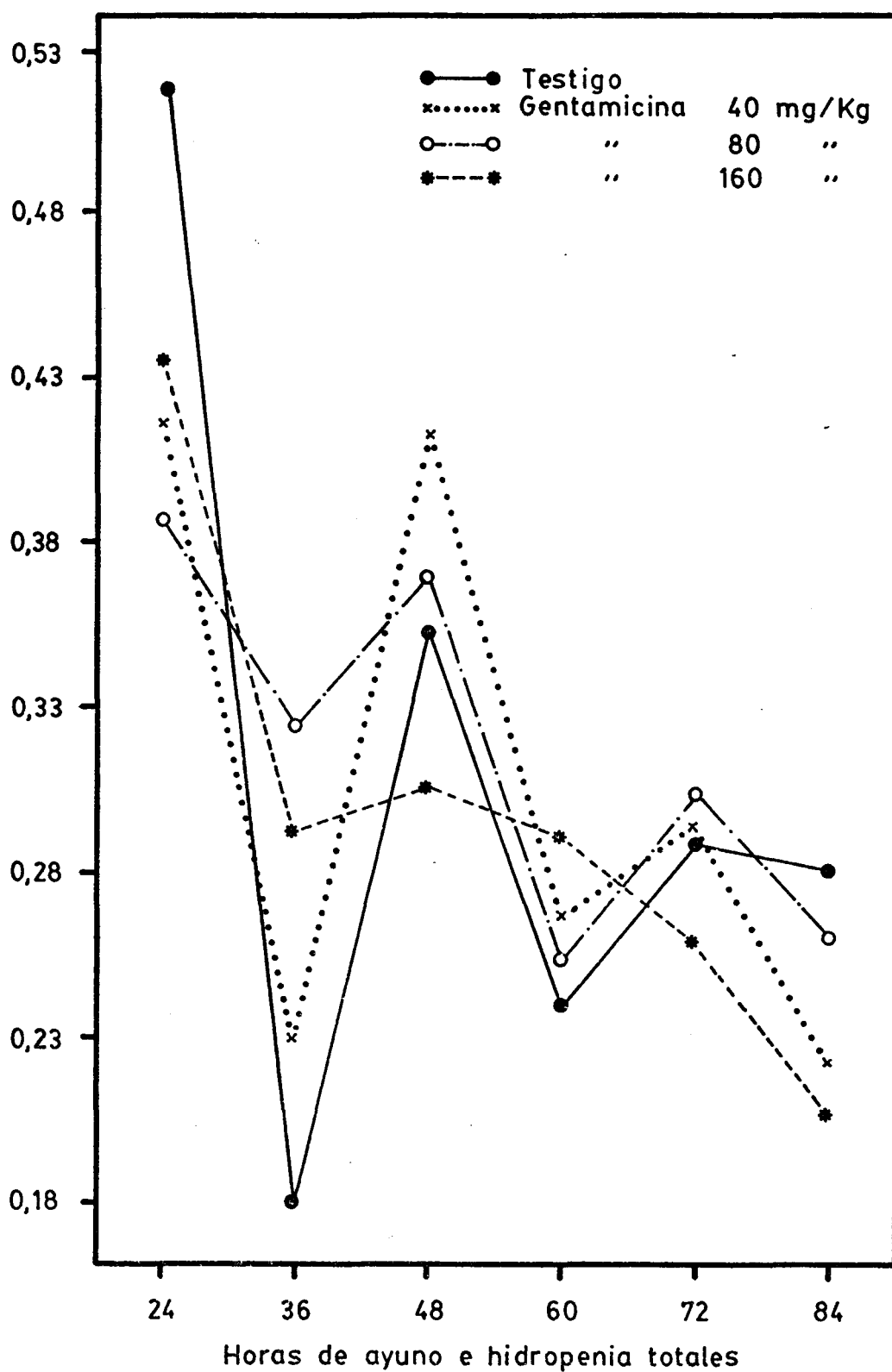


TABLA 47.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de Potasio en orina en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	0,57	N.S
	Entre intervención	1	0,012	N.S
	Interacción	3	1,26	N.S
36 horas	Entre las dosis	3	1,34	N.S
	Entre intervención	1	1,79	N.S
	Interacción	3	1,55	N.S
48 horas	Entre las dosis	3	0,56	N.S
	Entre intervención	1	10,68	P < 0,01
	Interacción	3	1,45	N.S
60 horas	Entre las dosis	3	0,26	N.S
	Entre intervención	1	4,09	P < 0,05
	Interacción	3	0,67	N.S
72 horas	Entre las dosis	3	0,09	N.S
	Entre intervención	1	0,70	N.S
	Interacción	3	0,54	N.S
84 horas	Entre las dosis	3	0,74	N.S
	Entre intervención	1	6,32	P < 0,05
	Interacción	3	2,28	N.S

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza(Snedecor)

TABLA 48.- Resultados del análisis estadístico de la variación de Potasio en orina en función de la nefrectomía.  
Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,03	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	19,82	$P < 0,01$
	INTERACCION	15	1,28	N.S
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,02	N.S
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	12,40	$P < 0,01$
	INTERACCION	15	1,02	N.S

## PROTEINAS EN ORINA

1.- En las no nefrectomizadas, hay diferencias entre dosis y tiempo.

Dosis. - El promedio general con excipiente es 12,87 y con 40 mg 12,48 y con 80 mg, el promedio es de 14,55 y con 160 mg es de 16,98.

Hay pues un efecto significativo de la administración del antibiótico.

En función del tiempo hay diferencias significativas, hay una disminución de la excreción de proteínas, como conclusión la Gentamicina es tóxica, pero ejerce su poder yatrogénico en los primeros momentos.

2.- Nefrectomizadas. - Hay una relación dosis-efecto con excipiente es 13,68, con 40 mg es 13,97 y con 80 mg es 15,48 y con 160 mg/k. 18,43/fracción de 12 horas.

En cuanto al tiempo, también para lo mismo, la eliminación de proteínas es máxima a las 24 horas, con una media de 19,60 mg/K y después disminuye.

3.- A las 48 horas, lo que se aprecia es que la eliminación de proteínas es significativamente mayor en las ratas tratadas

con dosis máxima (160 mg), con independencia de que sea operada o no. Este fenómeno es más ostensible a las 48 horas y 72 horas.

En las etapas tardías a las 74 horas, la excreción de proteínas es significativamente más alta en las ratas nefrectomizadas que en las que no lo están.



TABLA 49.- Proteínas en orina (mg/h) en ratas no nefrectomizadas sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	15,98±5,38 (6)	19,53±4,34 (6)	20,09±5,12 (6)	20,81±2,14 (6)
36 horas	12,06±2,40 (5)	13,45±1,52 (5)	16,29±2,94 (6)	18,52±0,81 (6)
48 horas	15,71±1,91 (6)	11,43±1,72 (6)	14,12±1,15 (6)	18,32±3,55 (6)
60 horas	11,56±2,24 (6)	14,68±1,88 (6)	13,62±1,63 (5)	20,08±5,02 (6)
72 horas	12,13±1,79 (6)	10,85±1,98 (6)	14,86±2,31 (6)	17,14±3,36 (6)
84 horas	12,14±1,66 (5)	13,81±2,91 (6)	13,18±1,31 (5)	14,36±2,65 (4)

Evolución de la Proteinuria (mg/12 h) en ratas no ne  
frectomizadas.  $\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

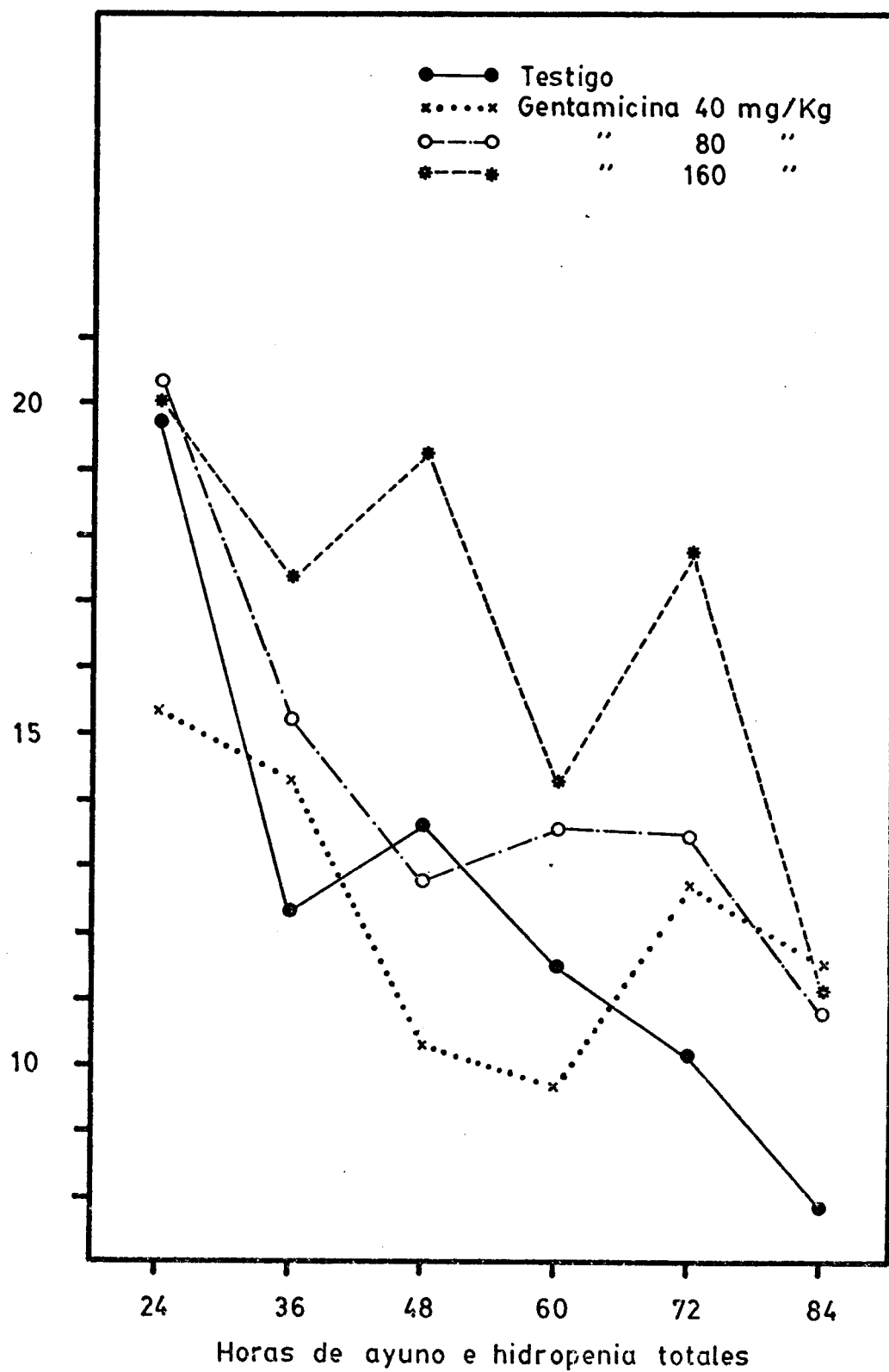


TABLA 50.- Proteínas en orina (mg/h) en ratas nefrectomizadas sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	19,78 $\pm$ 3,21 (6)	15,33 $\pm$ 3,49 (6)	20,42 $\pm$ 7,16 (6)	19,44 $\pm$ 2,48 (6)
36 horas	12,43 $\pm$ 3,03 (6)	14,31 $\pm$ 3,50 (6)	15,25 $\pm$ 2,87 (6)	17,41 $\pm$ 1,62 (5)
48 horas	13,65 $\pm$ 2,36 (6)	10,48 $\pm$ 0,44 (6)	12,85 $\pm$ 3,85 (6)	19,23 $\pm$ 3,54 (6)
60 horas	11,56 $\pm$ 2,81 (5)	9,69 $\pm$ 0,95 (5)	13,59 $\pm$ 2,19 (6)	14,39 $\pm$ 2,18 (6)
72 horas	10,33 $\pm$ 1,24 (5)	12,71 $\pm$ 0,78 (6)	13,65 $\pm$ 1,87 (6)	17,88 $\pm$ 3,44 (6)
84 horas	9,94 $\pm$ 0,66 (5)	11,77 $\pm$ 2,35 (5)	10,96 $\pm$ 1,30 (5)	11,19 $\pm$ 0,85 (4)

Evolución de la Proteinuria (mg/12 h) en ratas nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

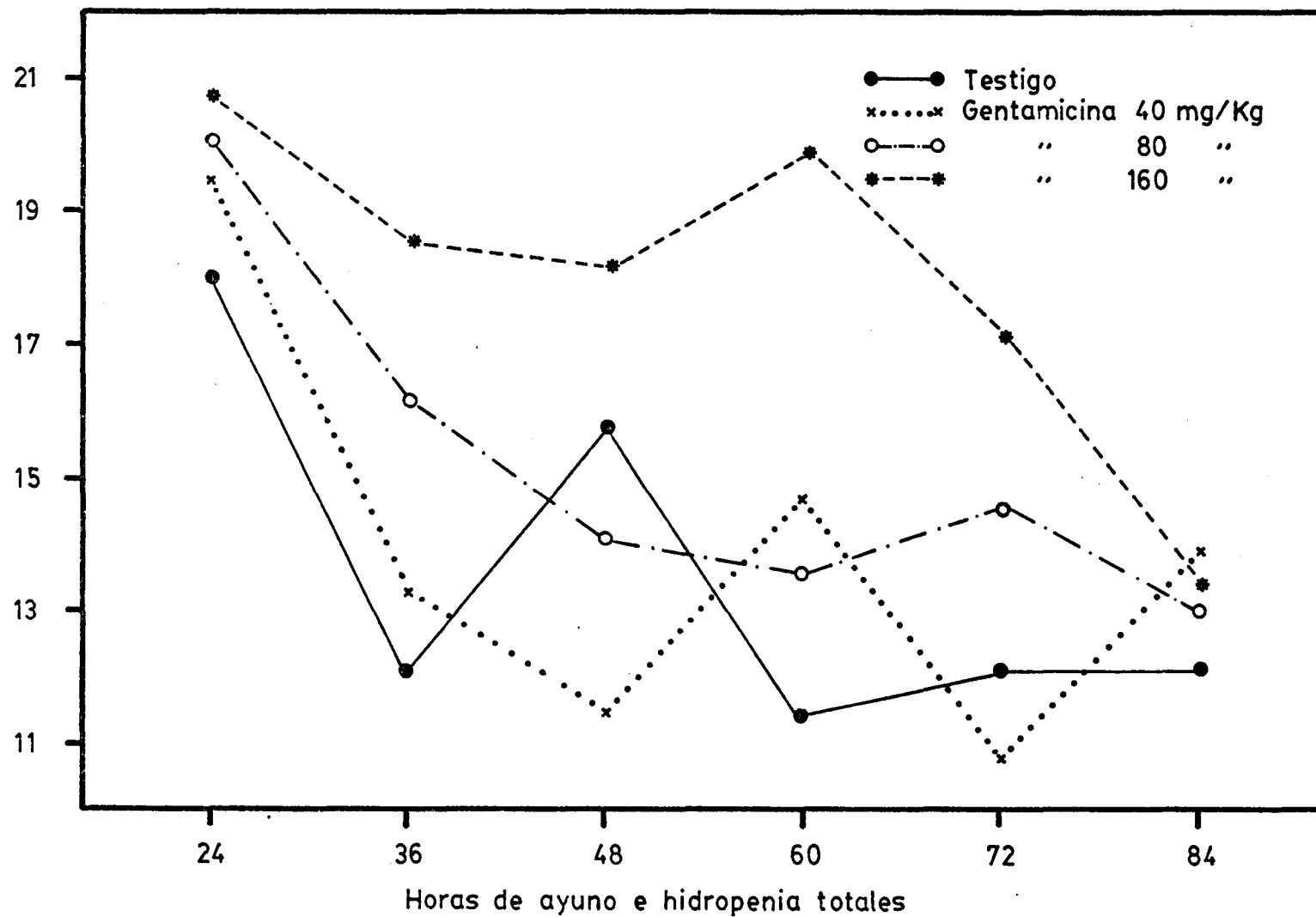


TABLA 51.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de Proteínas en orina en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	0,19	N.S
	Entre intervención	1	0,05	N.S
	Interacción	3	0,16	N.S
36 horas	Entre las dosis	3	1,78	N.S
	Entre intervención	1	0,09	N.S
	Interacción	3	0,05	N.S
48 horas	Entre las dosis	3	3,12	P < 0,05
	Entre intervención	1	0,21	N.S
	Interacción	3	0,12	N.S
60 horas	Entre las dosis	3	1,76	N.S
	Entre intervención	1	1,81	N.S
	Interacción	3	0,72	N.S
72 horas	Entre las dosis	3	2,99	P < 0,05
	Entre intervención	1	0,00	N.S
	Interacción	3	0,27	N.S
84 horas	Entre las dosis	3	0,90	N.S
	Entre intervención	1	4,35	P < 0,05
	Interacción	3	0,09	N.S

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza(Snedecor)

TABLA 52.- Resultados del análisis estadístico de la variación de Proteínas en orina en función de la nefrectomía.  
Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	P
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	2,81	$P < 0,05$
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	3,51	$P < 0,01$
	INTERACCION	15	0,38	N.S
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	3,24	$P < 0,05$
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	2,34	$P < 0,05$
	INTERACCION	15	0,30	N.S

## FOSFATURIAS

1.- No nefrectomizados en función del tratamiento, hay un incremento significativo de la excreción de fosfatos, sin que se pueda definir una relación dosis-efecto.

2.- Nefrectomizados, no influye la administración de - Gentamicina, pero si se aprecia un incremento de la fosfaturia a partir de las 36 horas y con relación al valor de las 24 horas.

3.- Comparando entre operadas y no operadas, a las 36 horas, no hay diferencia.

4.- A las 48 horas, hay un incremento mayor de la excreción de los fosfatos en las ratas operadas y las no operadas. En las ratas operadas, el promedio es 4,50 y en las no operadas 2,88. Este mismo fenómeno sigue observandose a las 76 horas con promedio entre 4,76 y 3,75 (operada).

TABLA 53.- Fosfatos en orina (umol/h) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	3,06±0,33 (6)	4,19±0,41 (6)	3,99±0,71 (6)	4,17±0,74 (6)
36 horas	3,46±0,56 (6)	3,97±0,46 (6)	4,32±0,52 (6)	3,65±0,52 (6)
48 horas	2,21±0,32 (6)	3,52±0,48 (6)	2,58±0,44 (6)	3,21±0,38 (6)
60 horas	4,09±0,63 (5)	3,84±0,81 (6)	3,82±0,45 (6)	3,30±0,45 (6)
72 horas	3,29±0,60 (6)	4,18±0,51 (6)	3,98±0,62 (6)	3,96±0,41 (6)
84 horas	3,01±0,76 (6)	5,03±1,55 (5)	2,51±0,24 (6)	3,98±0,34 (4)



# Evolución de la Fosfaturia (mg/12 h) en ratas no nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

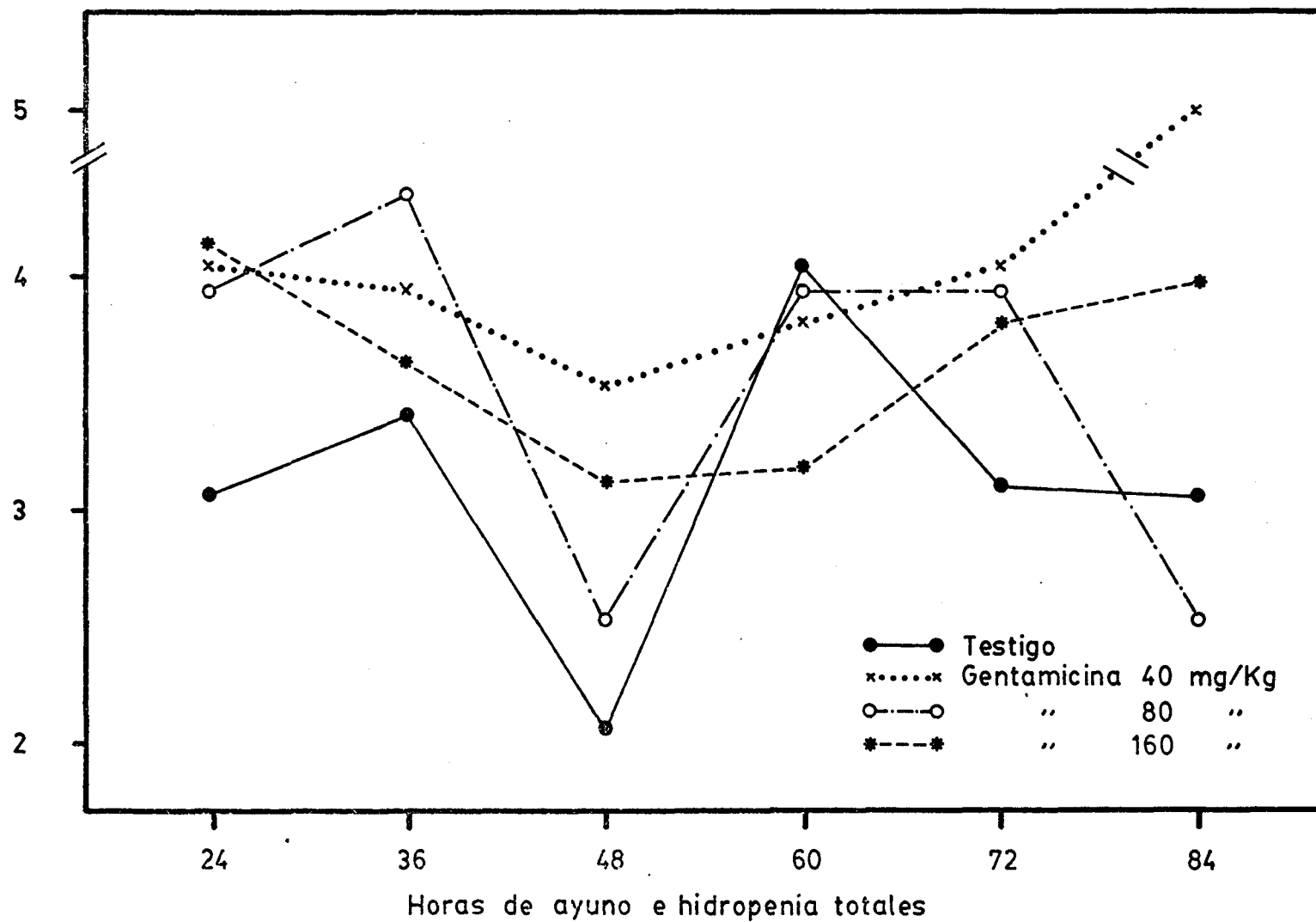


TABLA 54.- Fosfatos en orina (umol/h) en ratas nefrectomizadas sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total en periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	2,17±0,58 (6)	3,78±0,79 (6)	3,79±1,09 (6)	3,31±0,78 (6)
36 horas	3,00±0,99 (6)	4,45±0,95 (5)	5,69±1,19 (6)	4,74±0,64 (6)
48 horas	4,89±0,23 (6)	4,52±0,55 (6)	4,49±0,87 (6)	4,07±0,94 (6)
60 horas	4,66±0,50 (6)	4,55±0,32 (6)	4,91±0,94 (6)	4,93±0,81 (6)
72 horas	3,98±0,44 (6)	4,37±0,87 (6)	4,34±0,70 (6)	4,22±0,77 (6)
84 horas	5,65±0,65 (6)	4,16±0,53 (6)	4,52±1,07 (6)	4,22±0,72 (5)

Evolución de la Fosfaturia (mg/12 h) en ratas nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

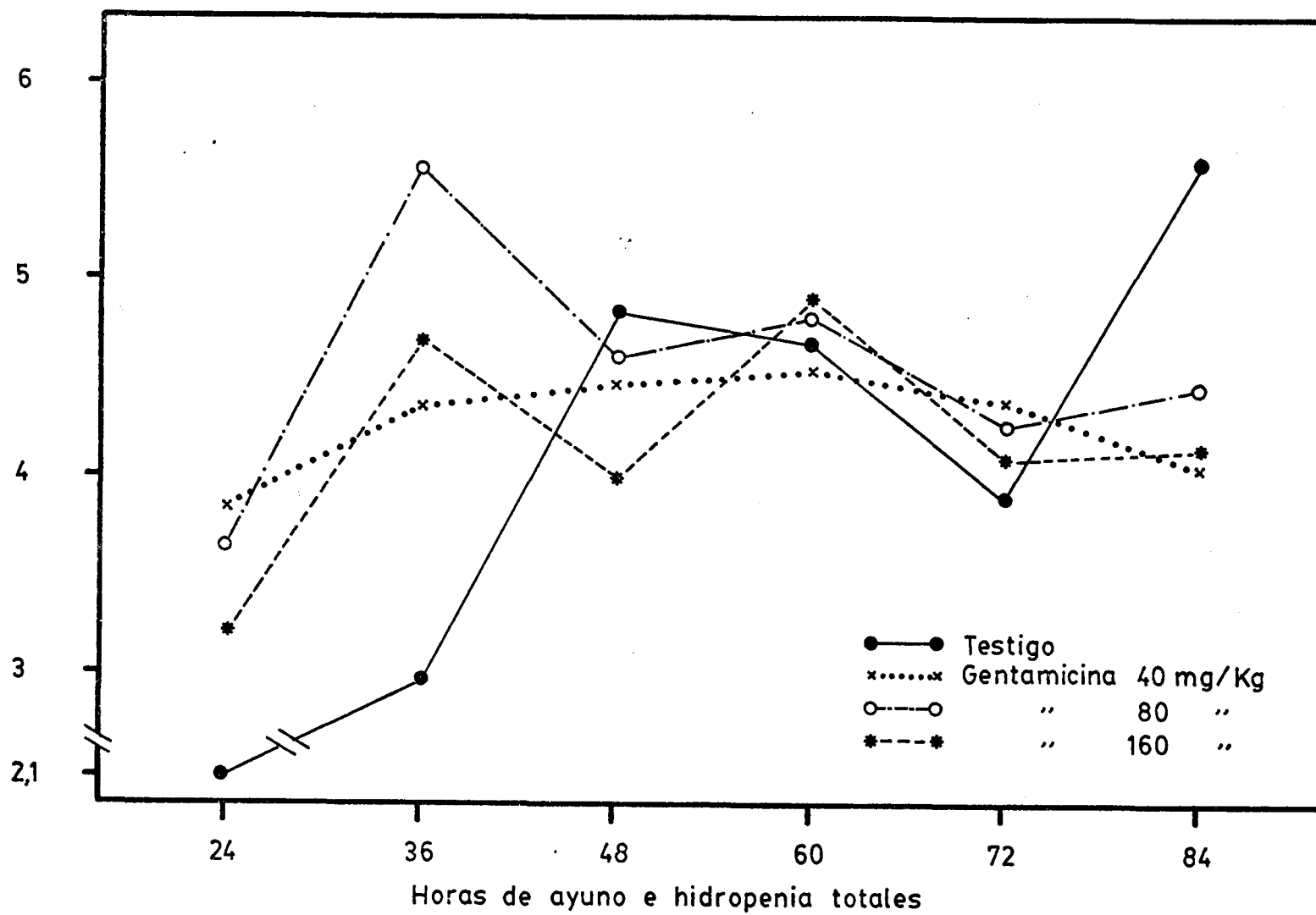


TABLA 55.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de Fosfatos en orina en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	1,57	N.S.
	Entre intervención	1	1,36	N.S.
	Interacción	3	0,11	N.S.
36 horas	Entre las dosis	3	1,82	N.S.
	Entre intervención	1	1,30	N.S.
	Interacción	3	0,57	N.S.
48 horas	Entre las dosis	3	0,31	N.S.
	Entre intervención	1	15,40	p<0,01
	Interacción	3	1,06	N.S.
60 horas	Entre las dosis	3	0,09	N.S.
	Entre intervención	1	4,78	p<0,05
	Interacción	3	0,25	N.S.
72 horas	Entre las dosis	3	0,39	N.S.
	Entre intervención	1	0,70	N.S.
	Interacción	3	0,06	N.S.
84 horas	Entre las dosis	3	0,61	N.S.
	Entre intervención	1	3,66	N.S.
	Interacción	3	1,89	N.S.

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza(Snedecor)

TABLA 56.- Resultados del análisis estadístico de la variación de Fosfatos en orina en función de la nefrectomía.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	2,55	p<0,05
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	1,70	N.S.
	INTERACCION	15	0,74	N.S.
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	0,54	N.S.
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	2,66	p<0,05
	INTERACCION	15	0,46	N.S.

## FOSFATASAS ALCALINAS EN ORINA

En lo que se refiere al fármaco, nos encontramos que hay un aumento considerable de la excreción de fosfatasas (en las no operadas). El aumento corresponde fundamentalmente a los animales tratados con dosis altas, ya que van desde 64,57 con excipiente (1000 U/12h) a 79,64 para 40 mg/k, 67,32 para 80 mg/k y 92,61 para 160 mg/k.

En cuanto al tiempo, tenemos que los incrementos máximos de excreción se dan a las 24 horas, descendiendo progresivamente conforme avanza el tiempo.

En los nefrectomizados hay un incremento en función de la dosis, que tiene una expresión clara en la dosis máxima de Genta micina y en cuanto al tiempo, hay un descenso paulatino que es máxima la excreción a las 24 h y mínima a las 84 horas.

La comparación de ambos grupos, indica que en los animales nefrectomizados, la excreción es menor a las 24, 36 y 48 horas y ya no es significativamente distinta a partir de las 48 horas. A las 60 horas hay diferencias en lo que se refiere a la administración de fármacos, ya que en los animales tratados hay una mayor excreción de fosfatasa alcalina, la cual es mayor sobre todo en los tratados con 160 mg/k.

TABLA 57.- Fosfatasas alcalinas en orina (mU/h) en ratas no nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia total durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	123,35±12,69 (6)	104,12±12,29 (6)	114±20,68 (6)	110,76±25,87 (6)
36 horas	62,16±15,16 (6)	112,62±33,25 (6)	64,26±6,07 (6)	97,18±16,03 (6)
48 horas	76,11±27,10 (6)	93,95±16,03 (6)	94,02±14,81 (5)	98,78±21,66 (6)
60 horas	46,38±5,18 (5)	46,26±11,61 (6)	47,27±11,12 (6)	101,15±26,61 (6)
72 horas	70,59±6,01 (6)	57,72±0,08 (6)	51,51±11,35 (6)	77,48±12,58 (6)
84 horas	25,80±5,93 (6)	59,87±8,50 (5)	37,33±6,27 (6)	59,18±11,38 (4)

Evolución de las Fosfatasas Alcalinas en Orina en ra  
tas no nefrectomizadas,  $\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

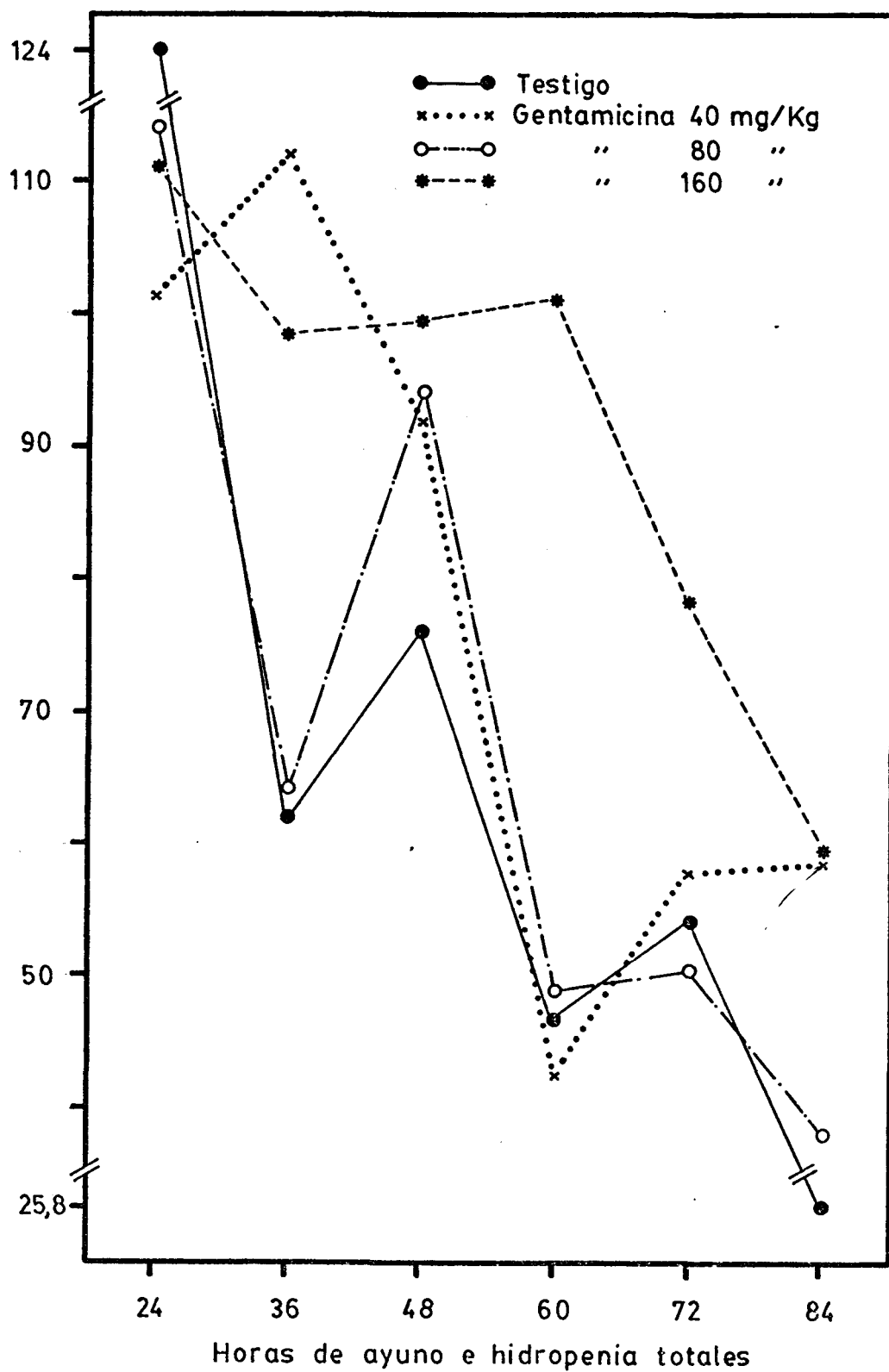




TABLA 58.- Fosfatasas alcalinas en orina (mU/h) en ratas nefrectomizadas, sometidas a tratamiento con Gentamicina y ayuno e hidropenia durante periodos de tiempo progresivos.

$\bar{x}$  S.E.M. Entre paréntesis, número de observaciones.

PERIODO DE TIEMPO	EXCIPIENTE	40 mg/Kg	80 mg/Kg	160 mg/Kg
24 horas	81,46±16,54 (6)	63,29±14,73 (6)	70,98±11,70 (6)	71,15±8,57 (6)
36 horas	45,66±8,53 (6)	36,99±6,47 (5)	56,09±8,45 (6)	51,75±6,30 (6)
48 horas	51,52±4,24 (6)	63,10±12,00 (6)	68,48±5,39 (6)	62,50±12,11 (6)
60 horas	28,90±6,41 (6)	48,83±9,82 (6)	45,62±8,76 (6)	97,24±26,99 (6)
72 horas	35,97±5,21 (6)	45,06±6,24 (6)	52,88±2,55 (6)	61,02±20,09 (6)
84 horas	30,12±5,15 (6)	30,73±2,73 (6)	49,77±6,45 (6)	44,87±18,63 (5)

Evolución de las Fosfatasas Alcalinas en Orina (mU/12 h) en ratas nefrectomizadas

$\bar{x}$  S.E.M. (N=6)

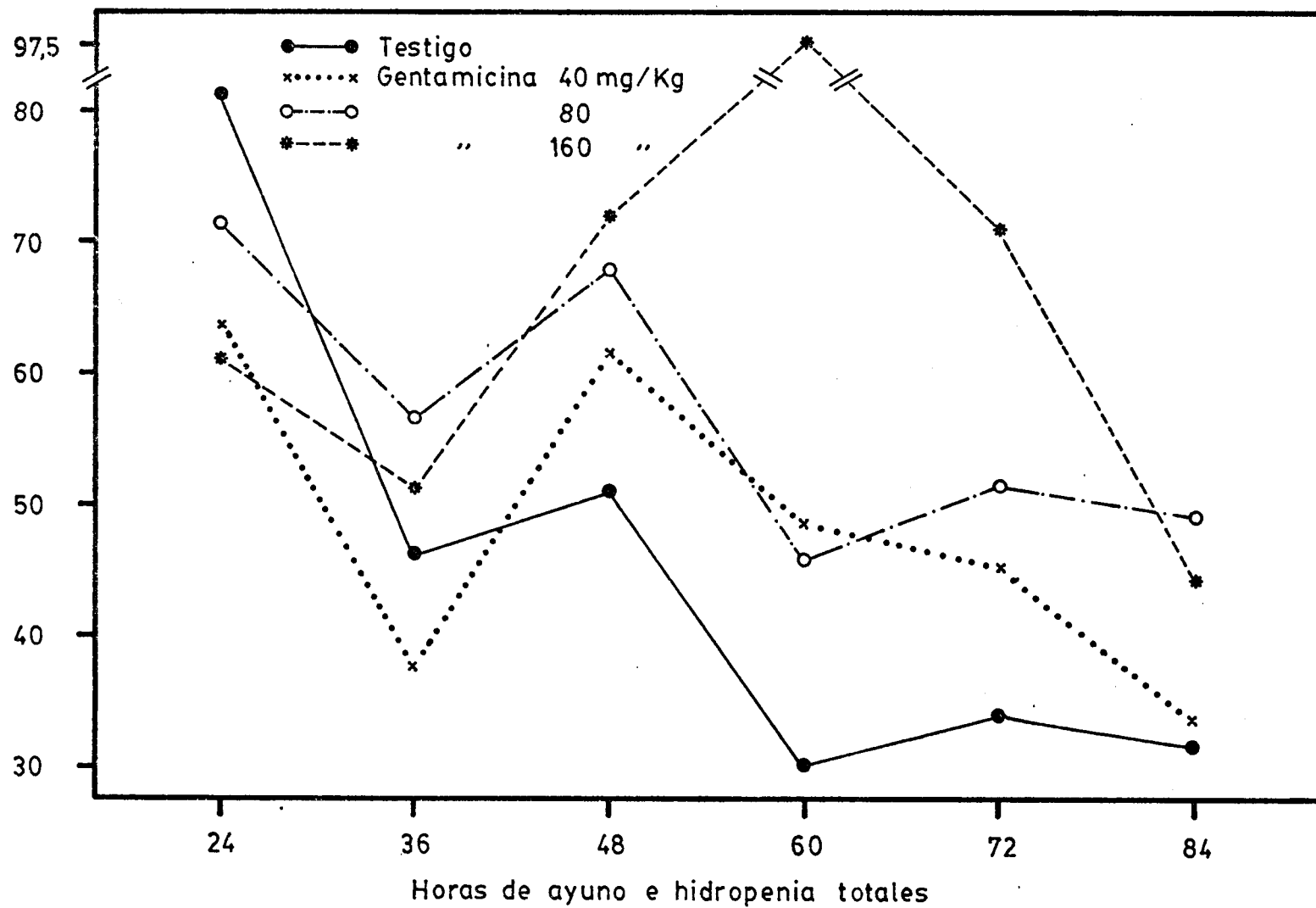


TABLA 59.- Resultados de análisis estadísticos de la variación de las Fosfatasas alcalinas en orina en función del tiempo.

Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	p
24 horas	Entre las dosis	3	0,53	N.S
	Entre intervención	1	14,57	P < 0,01
	Interacción	3	0,03	N.S
36 horas	Entre las dosis	3	1,10	N.S
	Entre intervención	1	10,72	P < 0,01
	Interacción	3	1,79	N.S
48 horas	Entre las dosis	3	0,51	N.S
	Entre intervención	1	6,68	P < 0,05
	Interacción	3	0,09	N.S
60 horas	Entre las dosis	3	6,34	P < 0,01
	Entre intervención	1	0,26	N.S
	Interacción	3	0,12	N.S
72 horas	Entre las dosis	3	2,28	N.S
	Entre intervención	1	2,14	N.S
	Interacción	3	0,31	N.S
84 horas	Entre las dosis	3	2,62	N.S
	Entre intervención	1	0,67	N.S
	Interacción	3	2,51	N.S

\*-Grados de Libertad

\*\*-Razón de Varianza(Snedecor)

TABLA 60.- Resultados del análisis estadístico de la variación de las Fosfatasas alcalinas en orina, en función de la nefrectomía. Análisis de varianza.

PARAMETROS	ORIGEN	G.L.*	F**	P
SIN NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	3,84	$P < 0,05$
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	9,92	$P < 0,01$
	INTERACCION	15	0,79	N.S
CON NEFRECTOMIA	ENTRE LAS DOSIS	3	3,28	$P < 0,05$
	ENTRE LOS TIEMPOS	5	13,88	$P < 0,01$
	INTERACCION	15	4,36	N.S

### III.1.1.- VALORACION ESTADISTICA

### 1. Evolución del peso (decremento en g/12h)

El peso se reduce progresivamente conforme progresa el periodo de ayuno, siendo muy significativa la diferencia entre los tiempos ( $p < 0,01$ ). En cambio, no se apreciaba que existan diferencias significativas entre los tratamientos instituidos, ni tampoco entre los dos grupos de animales (sin y con nefrectomía). No obstante, se asiste a una interacción muy significativa "dosis x intervención" ( $p < 0,01$ ) en las ratas de 24 horas de ayuno, que sugiere que en las ratas no nefrectomizadas tratadas con gentamicina hay un mayor descenso del peso que en las nefrectomizadas, sin que se observe tendencia alguna a una relación dosis-efecto. No encontramos una explicación satisfactoria para este fenómeno que, por demás, no se registra en los periodos de tiempo sucesivos.

### 2. -Evolución de la diuresis (ml/12h)

Observamos una tendencia estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ) a la reducción de la diuresis a partir de las 36 horas de ayuno e hidropenia. Los valores de la diuresis a las 24 horas, son

claramente superiores a los de los tiempos sucesivos pero las oscilaciones entre la diuresis a las 36 horas y las horas sucesivas no resultan significativas. Este fenómeno se aprecia tanto en las ratas sin como con nefrectomía y, en los que respecta a las intervenciones sólo a las 48 y 84 horas se revela una diferencia significativa entre estos dos tipos de intervención, resultando estadísticamente más elevadas las diuresis en las ratas nefrectomizadas. En esta diferencia probablemente influye un comportamiento vicariante del riñón indemne o, abundando en la opinión de otros investigadores (BOWMAN, 1977) (15) una demostración de nefrotoxicidad, por coincidir con una eliminación más elevada -como veremos más adelante- de electrolitos, proteínas y fosfatos. Hay, así mismo, una tendencia a elevarse la diuresis en los animales tratados con gentamicina y esta tendencia llega a ser estadísticamente significativa a las 72 horas ( $p < 0,05$ ) coincidiendo este efecto tóxico con el descrito por el autor antes citado (BOWMAN, 1977) (15)

### 3.- Evolución de la natriuresis (mmol/12 h)

Se ha observado una excreción aumentada de sodio, estadísticamente significativa, en las ratas tratadas con gentamicina, con respecto a la eliminación correspondiente a los animales tratados con escipiente ( $p < 0,05$ ). Esto se presenta tanto en las ratas no nefrectomizadas como en las nefrectomizadas y se refiere solo, a comparación entre tratamientos, ya que, en función del tiempo de ayuno e hidropenia, lo que se revela es que la excreción de sodio va reduciéndose progresivamente ( $p < 0,01$ ), revelando por un lado un efecto nefrotóxico (aumento de excreción comparado) y, por otro, -

una eliminación reducida por la expresión del prolongado ayuno. En las ratas no nefrectomizadas se revela una interacción muy significativa entre tiempos y dosis ( $p < 0.01$ ) que, a las 72 horas del ayuno, es muy llamativa en lo que se refiere a mayor excreción de sodio en las ratas tratadas con el antibiótico.

A partir de las 48 horas del ayuno, hay una tendencia a excretarse más sodio en las ratas nefrectomizadas, cuya tendencia alcanza cotas de significación estadística a las 48 horas ( $p < 0.05$ ) y a las 84 ( $p < 0.01$ ).

#### 4.- Evolución de la kaliuria (mmol/12 h.)

Se observa una reducción progresiva y significativa -- ( $p < 0.01$ ) de la excreción de potasio en los dos grupos de ratas, en comparación con el valor de las 24 horas. Este descenso llamativo -- debe ser puesto en relación con la situación de ayuno a que están sometidos los animales.

Al igual que sucedía con el sodio, se aprecia una tendencia a eliminarse mayor cantidad de potasio en las ratas sometidas a nefrectomía unilateral, tendencia que alcanza un nivel de significación estadística a las 48 horas ( $p < 0.05$ ) a las 60 y a las 84 ( $p < 0.05$ ) revelandose así, a nuestro juicio, una cierta insuficiencia renal en los animales sometidos a la intervención quirúrgica mutilante.



#### 5.- Evolución de la Cloruresis (mmol/12 h.)

El comportamiento de la excreción de cloruros es parejo con el de los electrolitos antes comentados. En efecto, vemos que los animales tratados presentan un incremento estadísticamente significativo de la excreción de cloruros ( $p < 0.05$ , para ratas no nefrectomizadas;  $p < 0.01$ , para las ratas nefrectomizadas) en comparación con la eliminación que se encuentra en el grupo tratado con el excipiente. Así mismo, es muy significativa la diferencia en función del tiempo ( $p < 0.01$ ), revelando que, a partir de las primeras 36 horas hay un descenso importante de la eliminación, sin que se aprecien diferencias dignas de considerarse entre las intervenciones -- efectuadas. Por su parte, debe consignarse, por llamar un tanto la atención, que en el grupo de ratas nefrectomizadas, inyectadas con las dosis máximas de gentamicina (160,0 mg/kg) se apreciaba una tendencia estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ) a eliminarse mayor cantidad de cloruros que en los demás animales, respondiendo, así, con un patrón nefrotóxico revelable por este hecho.

#### 6.- Evolución de la proteinuria (mg/12h.)

Una característica de la acción nefrotóxica de la gentamicina y de otros aminoglicósidos es el incremento de la eliminación proteica urinaria, que según los autores ya citados (BOWMAN, 1977) (15) es significativa a partir de un tratamiento prolongado con 50,0 mg/kg/día durante 14 días. Los valores encontrados por nosotros, aunque sensiblemente más elevados que los descritos por ellos revelan lo siguiente:

- incremento estadísticamente significativo de la proteinuria con la dosis superior de gentamicina (160,0 mg/kg) ( $p < 0.05$ , para ratas no nefrectomizadas y nefrectomizadas), siendo algo más elevado el incremento en la excreción, en las nefrectomizadas.
- reducción progresiva de la excreción proteica conforme progresa el periodo de ayuno, en comparación con las primeras 24 horas -- ( $p < 0.01$  para no nefrectomizadas y  $p < 0.05$  para nefrectomizadas).
- tendencia a una mayor excreción de proteínas en las ratas nefrectomizadas, que alcanza un nivel de significación crítico ( $p < 0.05$ ) a las 84 horas de ayuno.

Todo ello sugiere que en este tipo de experiencias, se unen dos circunstancias que propician la nefrotoxicidad. Por un lado las dosis más altas de gentamicina y por otro, la mutilación quirúrgica de un riñón.

#### 7.- Evolución de la fosfaturia (mg/12h)

Son muchos los factores que afectan la reabsorción tubular de fosforo -hormona paratiroidea, volumen del líquido extracelular y concentración plasmática de fosforo- resultando a veces difícil poner en relación posibles alteraciones en la fosfaturia, con el estado de la capacidad funcional del riñón, sin llevar a cabo ciertos balances metabólicos (tasa de flujo glomerular, excreción fraccionada de fosforo, etc.).

Los resultados de nuestros experimentos revelan lo siguiente:

- tendencia a incrementarse la fosfaturia en las ratas nefrectomizadas que en las no nefrectomizadas llega, llega a convertirse en estadísticamente significativa cuando se tratan los animales con gentamicina ( $p < 0.05$ ), en comparación con las tratadas con excipiente.
- incremento significativo ( $p < 0.05$ ) de la fosfaturia en las ratas nefrectomizadas, en función del tiempo, estando claramente diferenciados los dos grupos de animales a las 48 horas ( $p < 0.01$ ) y a las 60 horas ( $p < 0.05$ ).

Ello sugiere que, como los valores de la fosfatemia se alteran muy poco (ver más adelante), el incremento de la excreción de sodio podría deberse -salvo otros mecanismos que no es posible ahora definir- a una mayor activación de una proteinquinasa basal, en ratas con obstrucción ureteral bilateral.

#### 8.- Evolución de la fosfatasa alcalina urinaria (mU/12h.)

Asistimos a un incremento estadísticamente significativo de la excreción de fosfatasas alcalinas en los animales tratados con dosis máximas de gentamicina (160,0 mg/kg), tanto en el grupo de ratas no nefrectomizadas ( $p < 0.05$ ), como en el de ratas nefrectomizadas ( $p < 0.05$ ). Por el contrario, en función del tiempo, se observa un descenso de la excreción en comparación con el valor de las primeras 24 horas ( $p < 0.01$ ). El aumento de la excreción es significativamente más acusado en las ratas no nefrectomizadas en las

en las primeras 24 horas ( $p < 0.01$ , para 24 y 36 horas y  $p < 0.05$ , para 48 horas), siguiéndose observando la misma tendencia -no significativa- en las horas sucesivas. El efecto de la dosis mayor de gentamicina es máximo a las 60 horas de ayuno ( $p < 0.01$ ).

Este efecto puede revelar, a nuestro juicio, una alteración de la permeabilidad de las células tubulares.

#### 9.- Evolución de la natremia (mmol/l)

Las alteraciones producidas en las cifras de sodio en sangre son practicamente nulas, oscilando las cifras obtenidas alrededor de los 147 mmol/l, en clara concordancia con las descritas en condiciones experimentales semejantes (CHAUVIN, 1978) (29). Se exceptua una elevación incontrolada en el grupo de ratas nefrectomizadas, cuya génesis no queda clara, pero que pensamos sea atribuible más a un problema técnico que a la realidad. Hay sin embargo una tendencia significativa debilmente ( $p < 0.05$ ) a elevarse la natremia en los animales nefrectomizados, inyectadas con gentamicina, con una tendencia a descender la natremia en los nefrectomizados, en relación con los no nefrectomizados. Esto debe ponerse en relación con los fenómenos observados, a nivel de la nutriria, ya que son coincidentes en líneas generales, es decir, tendencia a aumentar la natremia en los animales con menos excreción de sodio y viceversa.

#### 10.- Evolución de la kaliemia (mmol/l)

Apreciamos una modificación significativa en las ratas no nefrectomizadas y una tendencia significativa ( $p < 0.01$ ) al descenso, en las primeras 60 horas, al comparar con las cifras de las 24 horas. Esta cifra de las 24 horas de ayuno es sensiblemente más alta de la descrita por CHAUVIN (1978) (29), circunstancia que a nuestro juicio, debe depender de una situación alimenticia más que de la nefrotóxica. En cuanto al tipo de intervención, se revela una tendencia significativa a las 36 horas y a las 60 horas a disponerse potasemias más altas en las ratas no nefrectomizadas, lo que está de acuerdo con la tendencia observada a una mayor eliminación de potasio en los animales nefrectomizados, ya descrita con anterioridad, cosa que sugiere un cierto grado de insuficiencia funcional renal cuando se practica la nefrectomía.

En lo que respecta al equilibrio electrolítico no parece que el tratamiento antibiótico tenga influencia decisiva.

#### 11.- Evolución de la cloruremia (mmol/l)

Las alteraciones de la cifra de cloruros en sangre reviste escasa transcendencia clínica y, en las condiciones de nuestra experiencia no permiten deducir inferencias de interés.

#### 12.- Evolución de la proteinemia (g/100ml)

En nuestras manos, puede estimarse que la proteinemia

-con valores similares a los descritos en la bibliografía (CHAUVIN, 1978) (29), tiene una tendencia significativa estadísticamente a descender en las ratas nefrectomizadas ( $p < 0.01$  a las 24 y 48 horas;  $p < 0.05$  a las 36 horas), sin que el ayuno mayor o menor ni la gentamicina influyan estadísticamente sobre ella. Este hecho se superpone con el encontrado en la excreción urinaria que, como vimos, es mayor así mismo en el grupo de ratas nefrectomizadas. Está de acuerdo con la hipótesis de una cierta permeabilidad celular aumentada en las ratas sometidas a la operación mutilante.

#### 13.- Evolución de la fosfatemia (mg/100ml)

Observamos una tendencia significativa ( $p < 0,05$ ) a descender la fosfatemia en la observación de las 36 horas de los animales no nefrectomizados, con una tendencia tardía (60 horas) a disminuir en las ratas nefrectomizadas. Es decir, las alteraciones de la fosfatemia son poco llamativas y de signo muy variable. Por lo tanto, hay que corroborar la sugerencia emitida al comentar las variaciones de la fosfaturia y pensar que dicha fosfaturia podría deberse a activaciones metabólicas locales (¿corticales?).

#### 14.- Evolución de las fosfatasas alcalinas (U/l)

Las alteraciones más importantes que hemos visto en las cifras de fosfatasas alcalinas en sangre, sugieren un aumento significativo en los animales sometidos a nefrectomía, sin que la gentamicina parezca tener una influencia directa sobre ella. El origen de esta elevación del enzima en las ratas nefrectomizadas po-

dría radicar quizás, en la presencia de lesiones acidóticas tubulares renales o estar relacionada con los cambios aparecidos en el metabolismo del fósforo, de origen cortical renal. Creemos que el estudio ultramicroscópico podría aportar interesantes sugerencias al respecto.

#### 15.- Evolución de la bilirrubina total ( $\mu\text{mol/l}$ )

Salvo un aumento de la bilirrubinemia total a las 84 horas en los animales tratados con gentamicina -sin distinción entre no nefrectomizadas y si nefrectomizadas- no se apreciaba ningún dato de interés más. Podría ponerse en relación este hecho, unido al aumento de las fosfatasas antes descrito, con una acción hepatotóxica simultánea, presente en los animales tratados con el antibiótico, No obstante, sin otros datos bioquímicos para contrstar, no resulta posible concluir de forma decisiva.

### III.2.- RESULTADOS MORFOLOGICOS



III.2. 1. - ANIMALES TRATADOS CON MAXIMAS DOSIS  
DE GENTAMICINA, NEFRECTOMIZADOS

Centramos nuestro estudio en los siguientes apartados:

- A) Alteraciones glomerulares
- B) Lesiones en el tubo contorneado proximal
- C) Lesiones en el tubo contorneado distal
- D) Lesiones en el asa de Henle

#### ALTERACIONES GLOMERULARES

En lo que se refiere al glomérulo, desde el punto de vista de la microscopía óptica, aparecen intensos fenómenos de dilatación vascular del pelotón glomerular, estando muchos de ellos, aunque profundamente dilatados, exangües. En la lámina 1-a vemos asas vasculares muy dilatadas y muchas de ellas formando amplias dilataciones que o bien tienen su luz repleta de hematies, o por el contrario aparecen sin contenido hemático. Parece como si la congestión vascular dentro del pelotón glomerular no fuese generalizada, sino que sería más intensa dentro de los llamados lobulillos glomerulares.

Otras veces, (lámina 1-b) se nos muestran las arterio-

las interlobulillares totalmente repletas de sangre y los pelotones vasculares, aunque presentaban fenómenos congestivos, ofrecían zonas más compactas con poca cantidad de hematíes, aunque si ofrecían elementos celulares descamados en el espacio capsular.

A mayor aumento, podemos ver (lámina 1-c), los capilares sanguíneos muy dilatados o bien repletos de hematíes, de tal manera que parece que las paredes capilares se hubiesen fundido formando grandes lagunas hemáticas, viéndose los elementos mesangiales con gran riqueza cromática, por el contrario los núcleos de los podocitos se nos muestran escotados, irregulares y pobres en cromatina.

En la lámina 2-a, observamos como estos fenómenos congestivos acaban por romper el endotelio vascular, dejando en libertad elementos hemáticos que escapan hacia el espacio capsular e incluso, como vemos en la lámina 2-b, se ven porciones celulares y podocitos descamados que han perdido su conexión con la membrana basal y quedan libres en este espacio. Estos elementos, hematíes que se liberan por ruptura congestiva de los capilares y podocitos, constituyen una parte del componente celular que se encuentra en el estudio del sedimento urinario.

Pasando al estudio con microscopía electrónica (lámina 2-c), encontramos la membrana basal conservada y la presencia en los endotelios vasculares de una moderada tumefacción y gran cantidad de cuerpos multivesiculares, que corresponde a una exaltación de los mecanismos lisosómicos primarios que pueden captar vacuolas de

contenido líquido y que penetran en el interior de la célula por pinocitosis, de tal manera que se considera (DIAZ-FLORES, 1977) (38) que el mecanismo de formación de estos cuerpos multivesiculares es - igual al del fagolisosoma, de tal forma, que se considera como un lisosoma secundario, que contiene en su interior diversas partículas pinocíticas.

Aunque en general la membrana basal aparece conservada (lámina 3-a), nos llama la atención la intensa hiperactividad de - los elementos podocíticos que muestran mayor cantidad de R.E.R., mitocondrias de matriz muy densa y un enorme desarrollo de los sistamas de Golgi.

Podíamos ver (lámina 3-b), como los núcleos de los podocitos mostraban un aspecto cerebroide y como adherido a la cápsula de Bowmann aparecen porciones de elementos celulares que ya habiamos visto con el microscopio óptico, y que corresponde a restos de podocitos descamados en el espacio capsular.

Otro dato, que veíamos de forma frecuente, es que de manera parcelar la membrana basal mostraba engrosamientos, no demostrándose en estas protusiones de la basal la clara delimitación de las tres porciones de la misma.

En la lámina 4-a, vemos estas protusiones y engrosamientos parcelares de la membrana basal, haciendose en estas zonas los pies de los podocitos casi continuos, recordando así su disposición en las nefritis membrano-proliferantes; tambien observamos en esta

imagen el enorme desarrollo del retículo endoplásmico de los elementos podocíticos, y en la lámina 4-b y lámina 5-a, observamos como el podocito presenta mitocondrias irregulares que tienen una enorme densidad en su matriz y como en el punto de implantación de muchos pies podocíticos se ve claramente la presencia de tonofilamentos.

Otro dato importante es que muchas veces dentro de los capilares, que nos mostraban tan gran dilatación, aparecían gran número de plaquetas (lámina 5-b), muchas de ellas en estadio granular y otras con fenómenos de degranulación, formando el sustrato histológico de un microtrombo.

En la lámina 6-a, podemos ver perfectamente dentro de la luz del capilar sanguíneo, plaquetas con dilatación del sistema tubular interno y mecanismos de adherencia de los elementos plaquetarios al endotelio vascular, pero conservandose aún la membrana basal. En otras zonas aparecían plaquetas dentro de los elementos vas-culares, que han formado un auténtico microtrombo y que están en fase de degranulación e intensa dilatación de los sistemas tubulares de adhesión al endotelio, el cual en muchas zonas se nos muestra denu-dado (láminas 6-b y 7-a).

En la lámina 7-b, podemos ver lo que antes confirmabamos, la alteración de la basal y ruptura del endotelio, la presencia de plaquetas, hematies y elementos leucocitarios y, por último, la hiperactividad de los elementos mesangiales.

En las láminas 18-a y 18-b, vemos elementos podocíticos

con presencia de inclusiones irregulares de tipo apoptótico y la falta de uniformidad parcelar de la membrana basal, sobre todo en aquella zona en la que se está iniciando un mecanismo de microtrombosis.

Todas estas alteraciones celulares de elementos podocíticos, van a originar la presencia de un componente celular exudado en el espacio capsular, a veces adherido a la propia cápsula de Bowman en los cuales la estructura de estos elementos celulares recuerda la morfología de los elementos podocíticos alterados (lámina 9-a).

Así pues, en suma, en el glomérulo podemos concluir que existe una serie de lesiones que muchas veces no son consecuencia de la acción directa del fármaco, sino que corresponden a las modificaciones hemodinámicas y estructurales provocadas por la hipertrofia vicariante, pero que la acción tóxica del fármaco provoca que lo que hubiera sido un simple mecanismo celular adaptativo a las circunstancias del stress para suplir la falta de un riñón, se potencie por acción del aminoglicósido, que ya en estos riñones sometidos a esta gran dosis de fármacos, provocan profundas alteraciones glomerulares que afectan tanto a la membrana basal como al endotelio vascular, originando fenómenos de microtrombosis y produciendo una hiperactividad funcional de los podocitos y fenómenos de descamación celular.

## LESIONES DEL TUBO CONTORNEADO PROXIMAL

Las lesiones tóxicas de la Gentamicina tienen su máxima

expresión a nivel de esta porción de la nefrona, en donde algunos - autores han descrito lesiones con dosis menores incluso de 10mg/día.

Lo más llamativo es la aparición de una intensa actividad lisosomal, con aumento de la actividad de las fosfatasas ácidas. Como todos sabemos, está demostrado (AITHAL-1977) (2) que la actividad de las fosfatasas ácidas, que es el enzima más típico de los lisosomas, aumenta durante la deficiencia de Potasio, y que nosotros, (COBO-1979) (19) hemos visto que en experiencias anteriores, existe una enorme eliminación de Potasio, pero por otra parte, hay que tener en cuenta que esta formación de lisosomas, no solamente está relacionada con mecanismos catalíticos, sino que de acuerdo con -- AITHAL (1977) (2), nos va a indicar la actividad de síntesis de proteínas en la formación de fosfolípidos.

Por otro lado se ha pensado, que las alteraciones circulatorias (DE DUVE-1959) (32), podrían provocar en los riñones una hiperactividad de los lisosomas. Hemos visto (láminas 9-b y 10-a), como los vasos corticales que corresponden a ramas de las arteriolas interlobulillares, aparecían en ellos muchas veces, fenómenos de microtrombosis incipientes con conservación de la lámina elástica, y estos datos, también los ponemos en relación con el aumento de la actividad lisosomal que aparece desde el comienzo de la experiencia.

Así pues, consideramos que la intensidad de las lesiones estructurales, está en relación con la dosis de Gentamicina, ya que a estas dosis los cambios celulares eran intensamente lesivos. Uno de los datos más llamativos, es la presencia de citosegregosomas y

segregosomas y aumento de lisosomas primarios y secundarios.

En general, a estas grandes dosis de antibiótico, con microscopía de luz y cortes semifinos, aparecían profundas alteraciones del T.C.P., pero con conservación, aunque parezca paradójico, de esa parte tan fundamentalmente importante que corresponde al ribete en cepillo. En la lámina 11-b, vemos la presencia de gran cantidad de lisosomas y de formaciones densas e irregulares que ocupan gran parte de la célula, y de núcleos pobres en cromatina y con mecanismos de cariólisis.

En la lámina 11-c, vemos como los núcleos se nos muestran hipocromáticos y hay una intensa congestión vascular peritubular y el citoplasma celular, muestra una intensa actividad lisosomal, pero el ribete en cepillo se nos muestra, a microscopía óptica, más o menos conservado.

En la lámina 11-a, observamos un aspecto panorámico de túbulos contorneados proximales en los que resalta la intensa hiperactividad lisosomal con conservación del ribete en cepillo, todo esto acompañado de un moderado edema intertubular y de una acusada congestión vascular.

En la lámina 11-b, vemos que cuando la acción es muy lesiva, el T.C.P. pierde en última instancia, el ribete en cepillo; disminuye la actividad lisosomal y la luz del tubo está repleta de restos celulares originados por el acúmulo de células completamente necrosadas, lo cual se hace más manifiesto en la lámina 11-c, en la que



del T.C.P. sólo queda intacta la basal, y se reconoce el origen de estas porciones tubulares de la nefrona, por la presencia de restos del ribete en cepillo. Existe además, una clara disminución de la actividad lisosómica.

Si pasamos a la Microscopía Electrónica, tenemos que indicar que la porción que más resiste la acción lesiva, es el propio ribete en cepillo. En la lámina 12-a, vemos como hay una enorme cantidad de lisosomas, como las mitocondrias aparecen desorganizadas en su distribución, y lo más llamativo es la presencia del ribete en cepillo más o menos conservado y como la luz del tubo está repleta de restos celulares que forman figuras mielínicas.

En la lámina 12-b, vemos ya, como a mayor aumento, - los restos celulares intratubulares tienen una disposición de caracter citosegregosómico, y como hay, sobre todo en las porciones basales del ribete en cepillo, fenómenos de comienzo de desestructuración de dicho ribete con dilatación y formación de figuras mielínicas, pero sin embargo, resalta la conservación de la estructura de este ribete en cepillo con la profunda alteración que presentan las células.

Los pliegues de la membrana basal se alteran precozmente, se muestran muy dilatados y las mitocondrias de estas zonas basales presentan, así mismo, intensa homegeinización de su matriz y mala delimitación de las crestas (lámina 13-a).

Otro dato importante, es la presencia de citosegregosomas y segregosomas dentro de la estructura del T.C.P.. La separa-

ción entre un citosoma y un citosegregosoma, la basamos en el contenido de la vacuola, de tal manera, (DIAZ-FLORES-1977) (38) que - cuando podemos reconocer el contenido de la vacuola, hablamos de citosoma y cuando es imposible la identificación estructural, ya que está en vía de intensa digestión, hablamos de citosegregosomas.

En la lámina 13-b, encontramos un enorme citosegregosoma, en el que se ven formaciones de tipo mielínico, pero sin que seamos capaces de reconocer ningún resto estructural dentro de esta enorme vacuola. Se ha considerado que el mecanismo de formación de los citosegregosomas es aproximadamente igual al de formación de los fagolisosomas, ya que las estructuras celulares desgastadas, representan un auténtico autofagosoma.

Otro dato importante era ver como a lo largo de la experiencia, a estas grandes dosis, aparecían lisosomas secundarios que estaban repletos en su interior de formaciones mielínicas (de aspecto), que a microscopía óptica correspondían a aquellas vacuolas densas, y que ya en microscopía electrónica nos iban a demostrar la disminución de la actividad y número de los lisosomas primarios, con la aparición de estos fagosomas o citosegregosomas que alteran la estructura celular, formando muchas veces estas agrupaciones, auténticos núcleos apoptóticos (WYLLIE-1980) (199).

En la lámina 14-a, aparecen segregosomas que tienen su interior repleto de formaciones mielínicas, y en la lámina 14-b estudiamos una zona superficial del nefrocito del T.C.P. en la que aparecen zonas homogeneizadas, sin apenas conservación de la estructu

ra celular, que estan vecinas a un ribete en cepillo que se encuentra conservado, viendose estas formaciones de tipo citosegregosómico con presencia de cuerpos mielínicos.

De forma panorámica, podemos ver en la lámina 15-a, un T.C.P. con grandes lisosomas, gran cantidad de vacuolas autofágicas con cuerpos mielínicos y formación de núcleos apoptóticos con disgregación de la estructura celular y desorganización de la disposición mitocondrial, pero con conservación del ribete en cepillo, y en otras zonas vecinas a las mitocondrias, y sin que haya una disposición clara de pliegues basales, lo cual como sabemos es típico de los T.C.P., aparecen grandes vacuolas lipídicas (lámina 15-b).

Otro dato llamativo es la profunda alteración de los pliegues basales. En la lámina 16-a, vemos un T.C.P. vecino a la luz de un vaso, el cual está congestivo y presenta elementos plaquetarios y hay alteración del endotelio vascular por fusión de elementos de tipo linfocitario. Hay una alteración de los pliegues basales, que se disponen ahora formando un intrincado laberinto, no de orientación perpendicular a la célula, sino más o menos horizontal, cosa que observamos perfectamente en la lámina 16-b, en la que los pliegues forman estructuras caprichosas. Las mitocondrias de estas zonas muestran modificación de su estructura, de tal manera que más que constituir crestas, son más bien túbulos mitocondriales.

Estudiando a grandes aumentos estas zonas (lámina 17-a), vemos la profunda alteración de las mitocondrias las cuales muestran el aspecto tubular antes mencionado, como los que ofrecen aquellas

células que elaboran esteroides, y que por lo general aparecen estas modificaciones vecinas a gotas lipídicas.

Por otra parte, encontramos muchas veces citosomas, como se ve en la lámina 17-b, cuyo origen es de caracter mitocondrial. Así mismo, en estadios avanzados, solían aparecer profundas alteraciones de la cromatina nuclear, iniciándose la cariólisis (lámina 18-a).

En suma, podemos concluir que la lesión del T.C.P. a grandes dosis, es muy intensa y que abarca desde fenómenos de picnosis y aumento de la eosinofilia de las células en microscopía óptica, hasta intensos mecanismos de cariorrexis y profundas alteraciones del citoplasma, apareciendo la luz del tubo repleta de restos celulares y gran cantidad de citosomas y citosegregosomas.

## LESIONES DEL TUBO CONTORNEADO DISTAL

El T.C.D. mostraba en microscopía óptica, tambien profundas alteraciones, pero nunca mostró la intensa hiperactividad lisosomal y la presencia de citosomas y citosegregosomas que aparecen en el T.C.P..

Lo más llamativo era la alteración de los pliegues basales, las intensas dilataciones del Retículo Endoplásmico dentro de las células, formando a modo de compartimentos, y dándoles a estas cé

lulas un aspecto que recuerda al concepto clásico de degeneración vacuolar hidrópica, y presentando gran cantidad de restos celulares. En las láminas 18-b y 18-c, vemos las diferencias lesivas entre los T.C.P. y T.C.D., la poca existencia en este último, de elementos lisosómicos y la presencia de grandes vacuolas dentro de estas células, que le dan aspecto más o menos vacuolar, con existencia de células dentro de la propia luz tubular.

En microscopía electrónica, observamos como disminuye el número de pliegues basales y en la superficie celular, existen gran cantidad de pequeñas microvesículas y como la unión entre las células se hace más laxa, apareciendo pequeños espacios intercelulares (lámina 19).

III.2.2.- ANIMALES TRATADOS CON MINIMAS DOSIS  
DE GENTAMICINA, NEFRECTOMIZADOS

Grupo de animales tratados durante 24 horas con 40mg/kg operados.

Los animales que recibieron mínimas dosis, pero que sufrieron nefrectomia, mostraban lesiones similares pero menos intensas que aquellas que habían sufrido nefrectomia y se le aplicaron dosis máximas de aminoglicósidos.

Las lesiones más obtensibles aparecieron en el T.C.P. En segundo lugar estaban afectadas algunas porciones del T.C.D. y en último lugar aparecieron lesiones en glomérulo.

En el T.C.P. aparecieron alteraciones mitocondriales y aumento de la actividad lisosomica así como la presencia de cuerpos apoptóticos. Lesiones que tambien aparecieron en aquellos animales a los que se les aplicaron máximas dosis. En la lámina 20-a vemos el punto de unión entre el T.C.P y T.C.D. en la que en el primero encontramos la desaparición de la relación pliegues basales-mitocondrias. Las mitocondrias no son alargadas sino que se nos -

muestran hinchadas, tumefactas y con escasa cantidad de crestas.

Otro dato alterativo era la presencia de modificaciones mitocondriales y presencia de intensa actividad lisosomal en los histiocitos y fibrocitos del estroma intertubular, Muchas veces aparecían cuerpos mieloides como se ve en la lámina 20-b y una total alteración de los pliegues basales. Tanto la microscopía óptica como la electrónica, nos demostró focos de necrosis y fenómenos de cariorrexis y picnosis tanto en T.C.P. como en el T.C.D.

Un dato muy llamativo era la presencia de gran cantidad de elementos lisosómicos del tipo de los citosegregosomas y citosomas a nivel del T.C.P. que tienen tendencia a disponerse hacia el polo apical de la célula en aquellas zonas que están situadas entre el - borde apical del nefrocito y aquellas porciones hasta donde llegan los repliegues basales. En la lámina 21-a podemos observar una sección de un T.C.D. en la que encontramos gran cantidad de lisosomas y cuerpos mielínicos con contenido heterogéneo y la presencia de una intensa hipertrofia de los sistemas de Golgi.

Las lesiones más llamativas con estas dosis aparecían tanto en el T.C.P como en el T.C.D. siendo más intensa en el primero. Desde el punto de vista estructural, a nivel del glomérulo observabamos como los capilares endoteliales presentan una gran tumefacción y una intensa actividad pinocitaria exhibiendo zonas, que quizás por este fenómeno de tumefacción, desaparecía el típico aspecto fenestrado de esta zona endotelial, y los endotelios mostraban una intensa actividad pinocitaria con cuerpos multivesiculares y grandes



mitocondrias.

En la lámina 21-b, encontramos un capilar con hematies en su interior y endotelios vasculares tumefactos con mitocondrias grandes que muestran sus crestas de disposición tubular sin que en estas zonas seamos capaces de observar poros endoteliales.

En la lámina 22-a, vemos la alteración endotelial con el engrosamiento local de la membrana basal, la presencia de plaquetas con tendencia adhesiva a formar trombos.

En la lámina 22-b, comprobamos los datos en los que antes insistíamos, como de forma parcelar disminuyen en estos endotelios los poros y, como debido probablemente a mecanismos hemodinámicos por el stress operatorio, se provoca una hemoconcentración con la presencia dentro del glomérulo de gran cantidad de plaquetas.

En la lámina 23, vemos otro corte del glomérulo con tumefacción endotelial y plaquetas dentro de la luz vascular.

Encontramos además fenómenos de hiperactividad de los sistemas de Golgi, de tal manera, que los podocitos mostraban un enorme desarrollo de los mismos y presencia de gran cantidad de - R.E.R. . Los pies podocíticos tienen a veces tendencias confluentes mostrando incluso una masiva actividad pinocitaria. En la misma lámina 23 vemos pies podocíticos con gran cantidad de vacuolas pinocíticas y como en algunas zonas, las prolongaciones citoplásmicas del

podocito tienen tendencia confluentes con gran actividad pinocitaria, que es un hecho común en el endotelio de los vasos.

III.2.3.- ANIMALES TRATADOS CON MAXIMAS DOSIS  
DE GENTAMICINA, NO NEFRECTOMIZADOS

Bajo el M.O. aparecieron intensos fenómenos pinocíticos con acusada hipereosinofilia de las células del T.C.P y presencia de núcleos grandes, pobres en cromatina y con nucleolos manifestos, muchas veces existían fenómenos de alteración de la polaridad celular con desorganización de los elementos celulares en superficie.

Dentro de los túbulos aparecían restos de células epiteloides y algunos túbulos se mostraban completamente necrosados, estas lesiones aparecían tanto en el T.C.P. como en el T.C.D. llamándonos la atención con simple M.O. y en corte semifino, la acusada actividad lisosomal de las células del T.C.P.

Por otra parte, agrupaciones más o menos redondeadas de linfocitos, células plasmáticas y monocitos rodeaban a los túbulos alterandolos. Además los glomérulos mostraban, muchos de ellos, una intensa dilatación de las asas vasculares y presencia de exudados en el espacio capsular.

En la lámina 24-a, tenemos en corte semifino, un T.C.P. con intensa actividad lisosomal, próximo a un glomérulo que tiene las asas vasculares alteradas por dilatación. Estudiando con mayor aumento los T.C.P. se ven (lámina 24-b) núcleos a diferentes alturas con cromatina poco densa y presencia de lisosomas y vacuolas con contenido poco denso que corresponden a núcleos apoptóticos.

Estudiando los T.C.D. (lámina 24-c) encontrábamos, - así mismo, alteraciones en el tamaño de los núcleos y en riqueza cromática y la presencia de gran actividad de lisosomas, aunque de menor tamaño que los que aparecen en el T.C.P.. Así mismo, son ostensibles los fenómenos de eliminación celular dentro de la luz del túbulo.

Con M.E. encontrábamos dentro de los T.C.P. grandes vacuolas de carácter opo~~pt~~ótico con riqueza de cuerpos mielínicos resultantes de los mecanismos líticos celulares (lámina 25-a).

En la lámina 25-b, encontramos citosegregosomas y lisosomas activados, mostrándonos los primeros, la presencia de cuerpos laminares de disposición más o menos concéntrica, Otro dato importante que aparecía en los T.C.P es la presencia de mitocondrias dilatadas así como una acusada dilatación del retículo endoplásmico liso que forma compartimentos dentro de las células del T.C.P..

En la lámina 26-a, encontramos una formación de carácter citosegregosómico y como los pliegues basales han desaparecido y existen mitocondrias de variables tamaños, tumefactas muchas de

ellas, y pobreza en crestas mitocondriales. Las microvellosidades conservaban su morfología, y era quizás de las zonas celulares que más resistía los mecanismos agresivos y sólo cuando toda la célula estaba prácticamente destruida era cuando se podía visualizar la alteración de estos elementos, lo cual nos iba a indicar el fallo ya irreversible de la actividad vital de la célula.

En la lámina 26-b, encontramos una profunda alteración celular, con zonas en las que se ve claramente la conservación de los microvillis y otras en las que existen una enorme vacuola autofágica que desintegra a los elementos celulares, afectando desde los microvillis hasta la basal del túbulo.

En los glomérulos, llamaba la atención como los endotelios aparecían alterados con fenómenos alterativos secundarios de la membrana basal y presencia de plaquetas y hematies dentro de la luz del vaso. Acúmulos plaquetarios que no son en este caso, consecuencia de mecanismos de hemoconcentración (lámina 27-a y b), ya que estos animales no habían sufrido el stress quirúrgico.

Un dato muy llamativo es la hiperactividad de forma sistemática de los sistemas de Golgi en los podocitos, así como la presencia de gran actividad en estos, de vesículas pinocitarias y de cuerpos multivesiculares como se ve en la lámina 28-a y b.

III.2.4.- ANIMALES TRATADOS CON MINIMAS DOSIS  
DE GENTAMICINA, NO NEFRECTOMIZADOS

Las lesiones en estos animales son muy llamativas, sobre todo a nivel de la cortical y en especial en el T.C.P.

En la lámina 29-a aparecen T.C.P. con enormes lisosomas siendo muchos de ellos de mayor tamaño que el propio núcleo celular. Los núcleos presentan una enorme pobreza en cromatina, aunque de forma parcelar, y en corte semifino, aparecía el ribete en cepillo conservado.

Estos fenómenos agresivos acababan por desorganizar la completa estructura tubular y como vemos en la lámina 29-b aparecen residuos celulares del T.C.P. con intensos fenómenos de necrosis celular.

En la lámina 29-c podemos comprobar la diferente acción lesiva que provoca el fármaco en los túbulos contorneados proximales y distales, viéndose la profunda desorganización de estos con presencia de grandes lisosomas pero conservando de forma parcelar el ribete en cepillo. Por otra parte, podemos comprobar como los túbu



los contorneados distales no tienen esta acusada actividad lisosomal, pero sin embargo muestran su luz ocluida por cilindros. Otro dato importante es la aparición a nivel de las zonas infranucleares de hendiduras que corresponden a fenómenos de dilatación de R.E.L. como después veríamos bajo M.E. de transmisión. La luz de los T.C.P. presentaban así mismo, la presencia de cilindros, como aparecen en la lámina 29-d. Los glomérulos presentaban una acusada dilatación de los elementos vasculares, apareciendo estos formando zonas dentro del glomérulo en los que por fusión de los endotelios vasculares, aparecen grandes lagunas hemáticas y existen fenómenos de exudación capsular.

En la lámina 30-a podemos ver un glomérulo con intensos fenómenos de dilatación de las asas vasculares, estos fenómenos congestivos vasculares, son así mismo manifiestos a nivel de las zonas medulares, existiendo incluso en algunas de estas zonas fenómeno de microtrombosis.

En la lámina 30-b y c, podemos observar la intensa tumefacción vascular con fenómenos de microtrombosis incipientes.

Estudiando los T.C.P. con M.E., aparecen grandes vacuolas con cuerpos mielínicos y presencia de fenómenos de picnosis nuclear.

En la lámina 31-a, encontramos una enorme vacuola dentro del citoplasma, a nivel de la zona basal y mitocondrias en diferentes estados alterativos. Así mismo, los microvillis se nos mues

tran alterados y aparecen intensos fenómenos de dilatación del retículo endoplásmico liso, que junto a la intensa actividad lisosomal en esta zona, altera los pliegues basales típicos del T.C.P.

En la lámina 31-b, vemos lisosomas con inclusiones mielínicas y fenómenos de dilatación del RE así como también, es manifestado en algunos túbulos la acusada alteración del ribete en cepillo. En el glomérulo aparecen muchas veces exudados capsulares de carácter celular, dentro de los cuales existen porciones de células que muestran una intensa actividad lisosomal.

En la lámina 32-a, vemos la cápsula de Bowman que tiene adherido un fragmento celular de probable origen podocítico con varios lisosomas de diferentes tamaños.

Otro dato característico es la intensa actividad de los sistemas de Golgi en los elementos podocíticos, hecho que hemos confirmado en todos los animales de nuestra experiencia en los diferentes grupos.

En la lámina 32-b, encontramos una porción de un podocito que tiene cuatro acúmulos dictiosómicos que se encuentran en estado de intensa capacidad funcional.

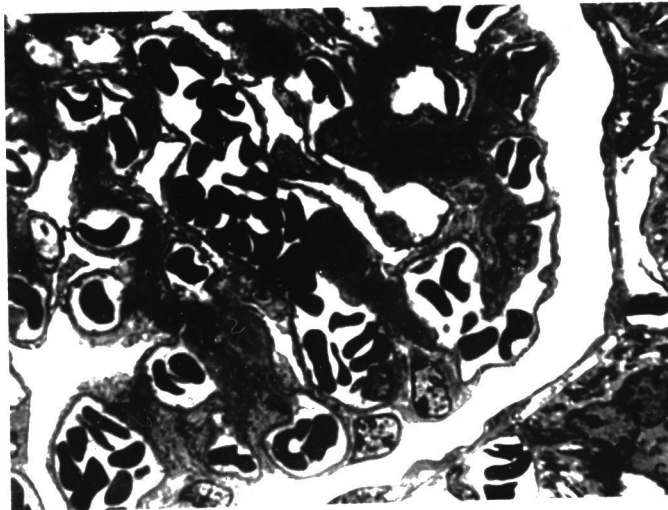
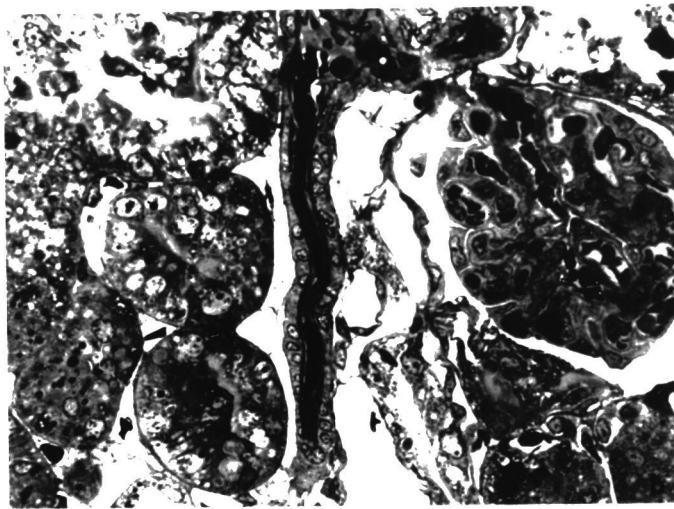
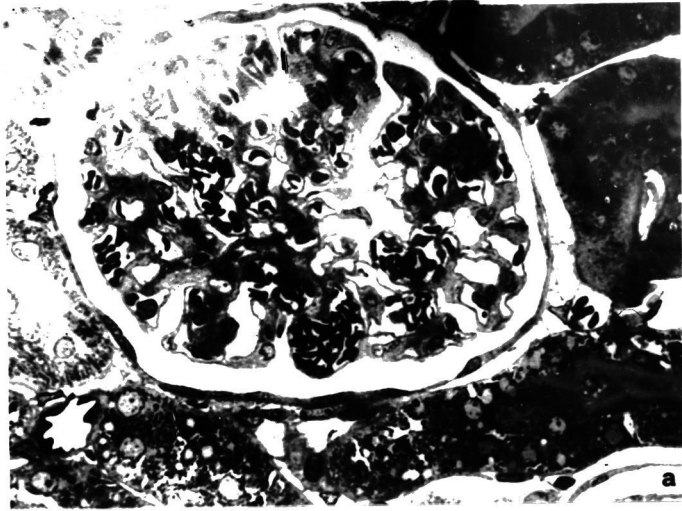
#### IV.- ICONOGRAFIA

Lámina 1

1-a.- 160 mg, 84 h. Glomerulo renal de rata nefrectomizada en el que se observan las asas dilatadas repletas de hematies.

1-b.- Arteriola interlobulillar. Elementos celulares descamados en el espacio capsular.

1-c.- Laguna hemática en el pelotón glomerular. Núcleo de célula mesangial. Podocito.



LAMINA 1

Lámina 2

2-a.- Liberación de elementos hemáticos al espacio capsular.

2-b.- A mayor aumento se observan podocitos descamados en el espacio capsular.

2-c.- Endotelio vascular con presencia de cuerpos multivesiculares.

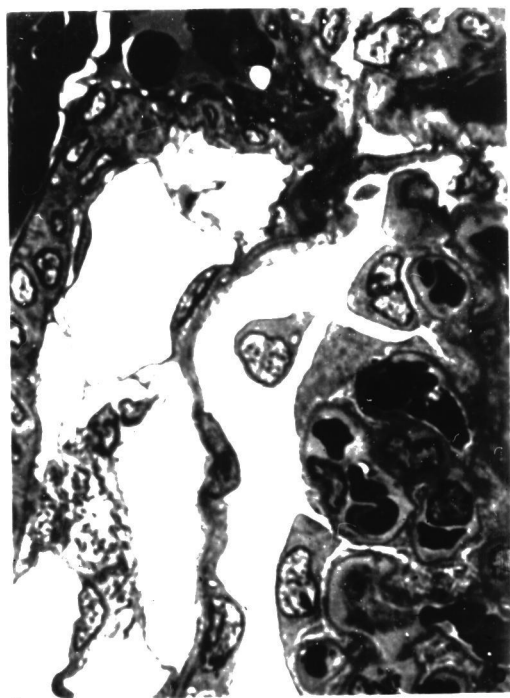
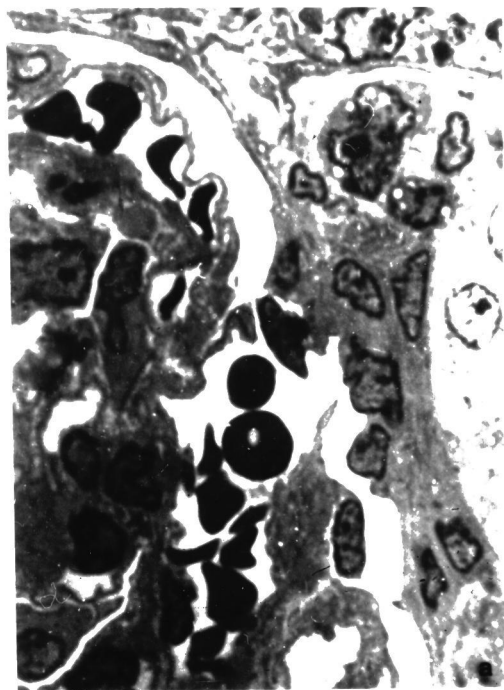
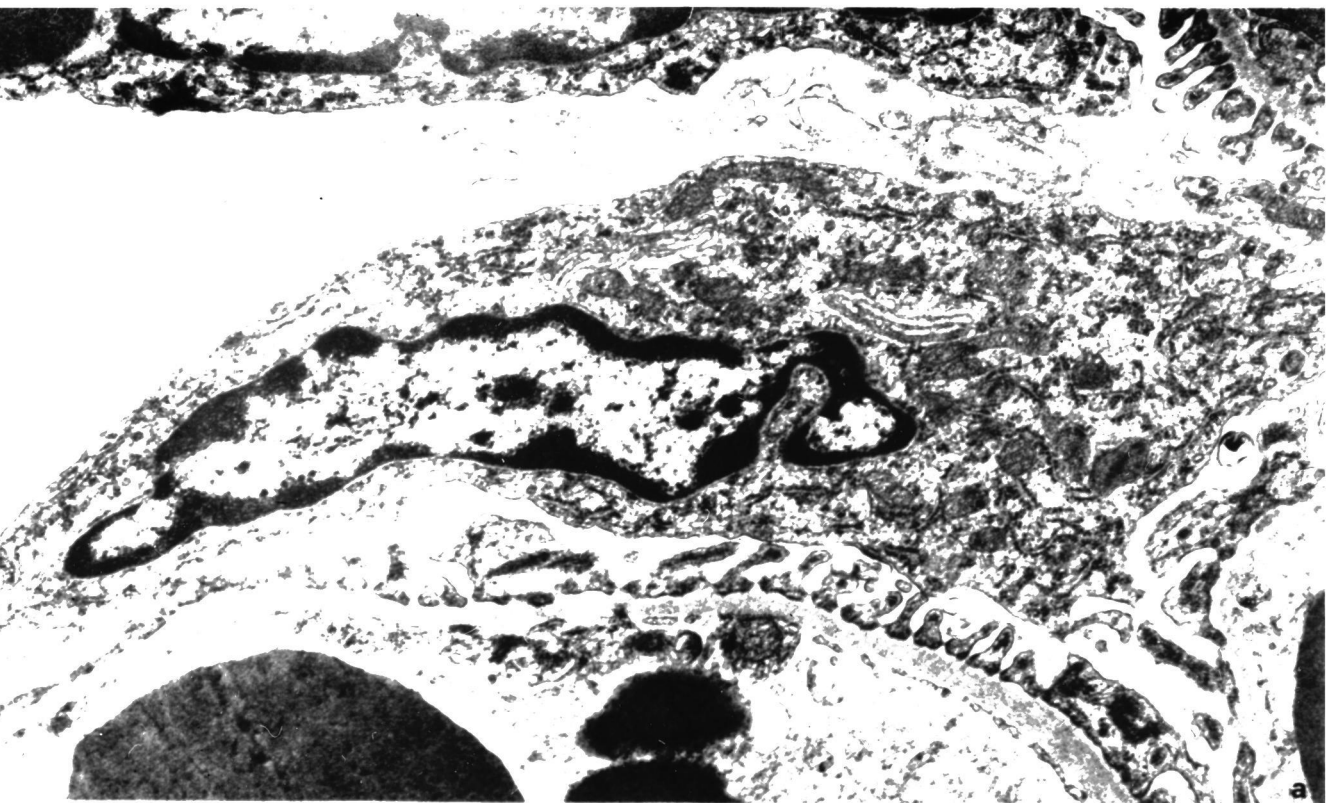


Lámina 3

3-a. - Hiperactividad de un elemento podocítico.

3-b. - Restos celulares adosados a la cápsula de Bowman.



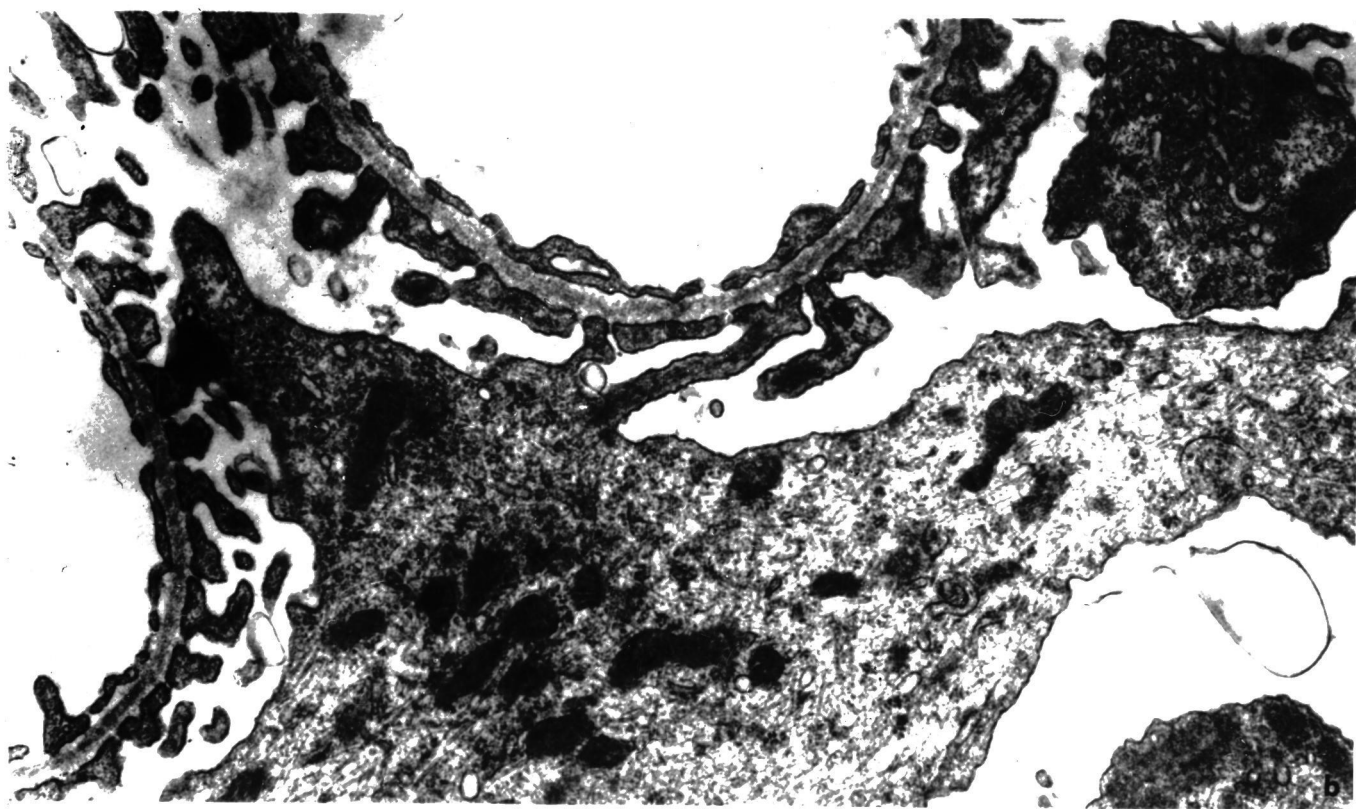
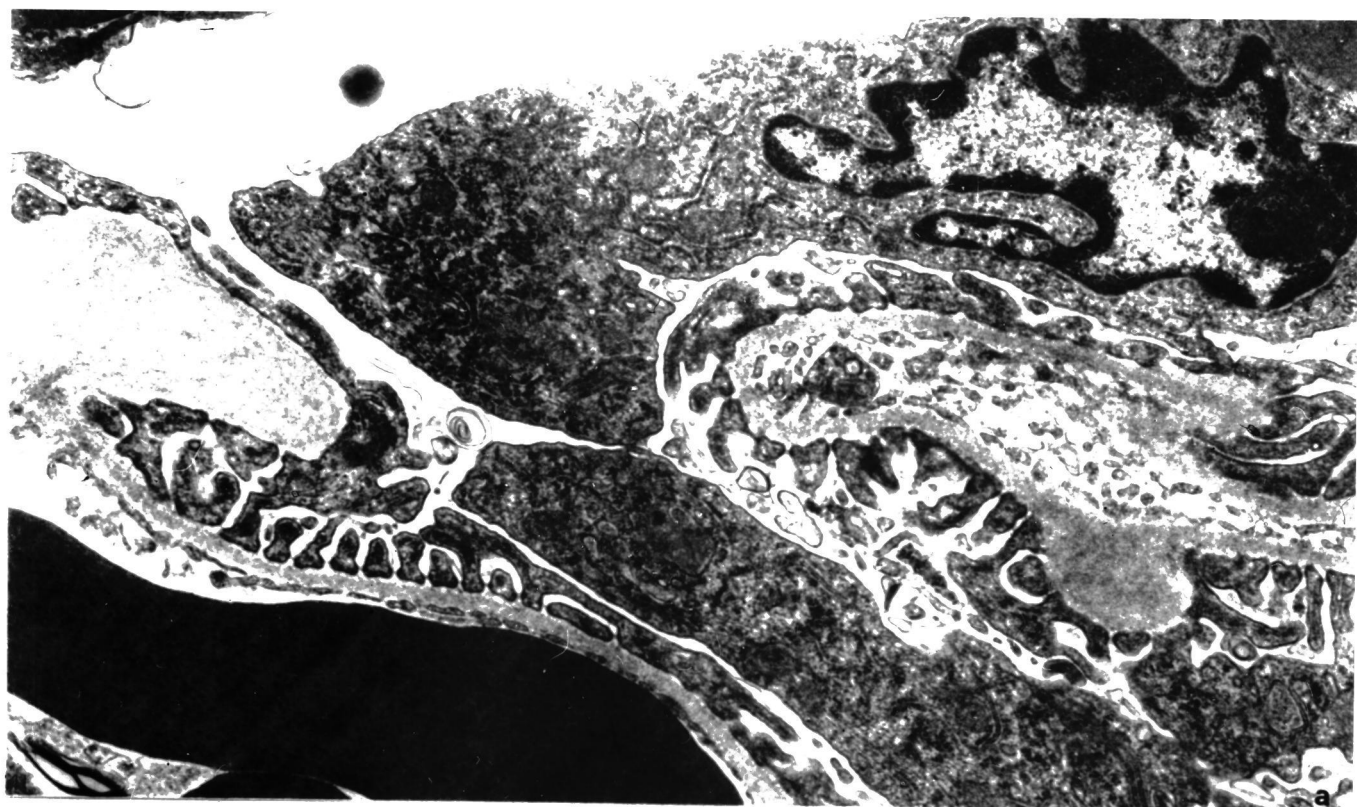


LAMINA 3

Lámina 4

4-a.- Engrosamientos parcelares de la membrana basal.

4-b.- Célula podocítica mostrando mitocondrias irregulares y densas.

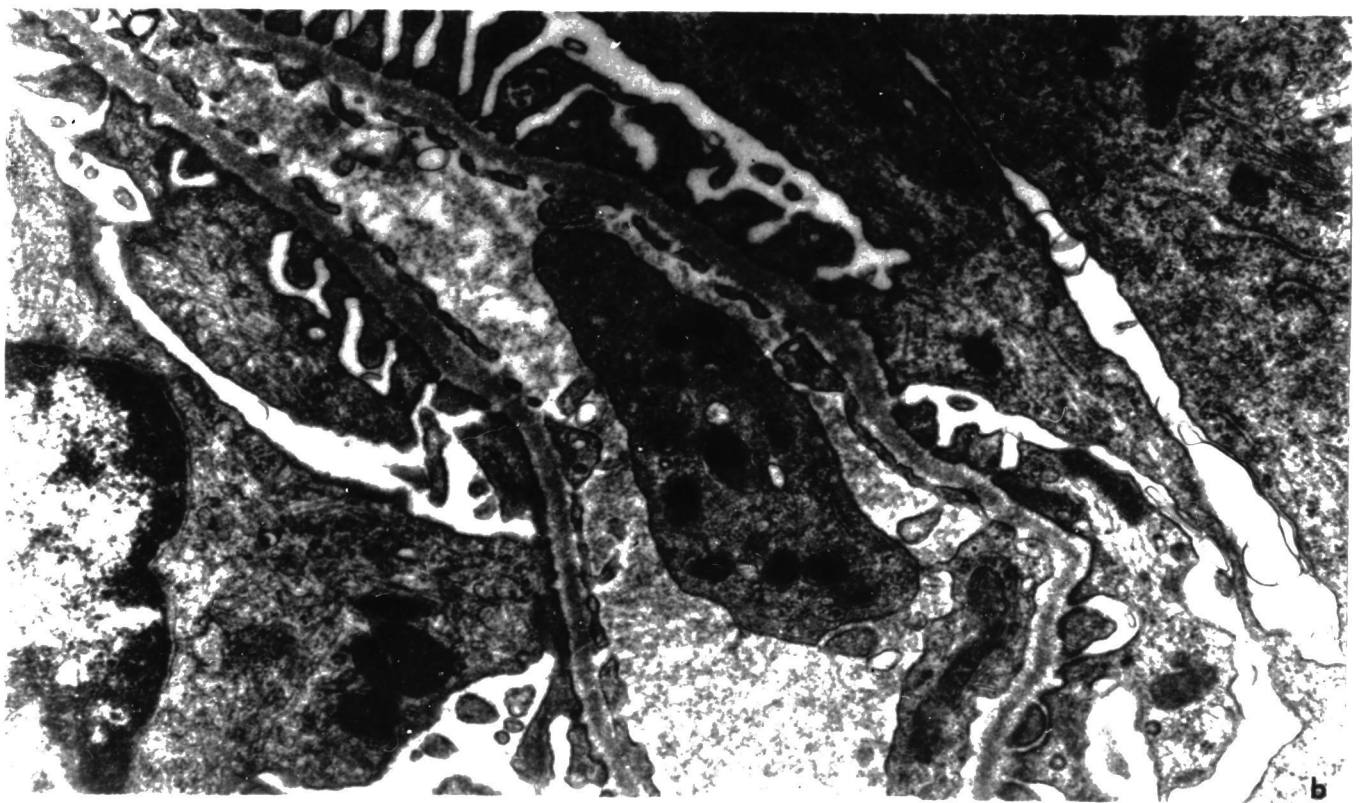
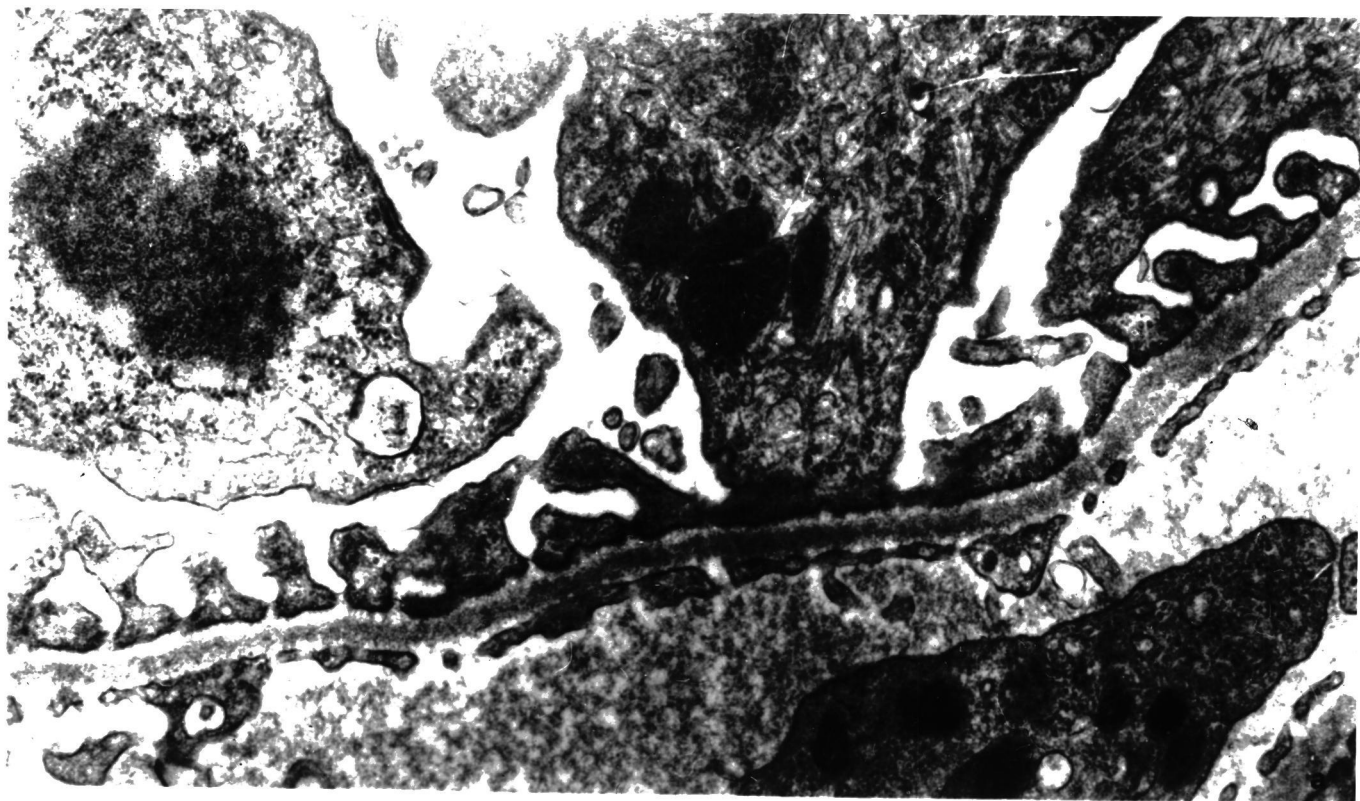


LAMINA 4

Lámina 5

5-a.- Presencia de tonofilamento en los pies podocíticos.

5-b.- Luz capilar con presencia de un elemento plaquetario.



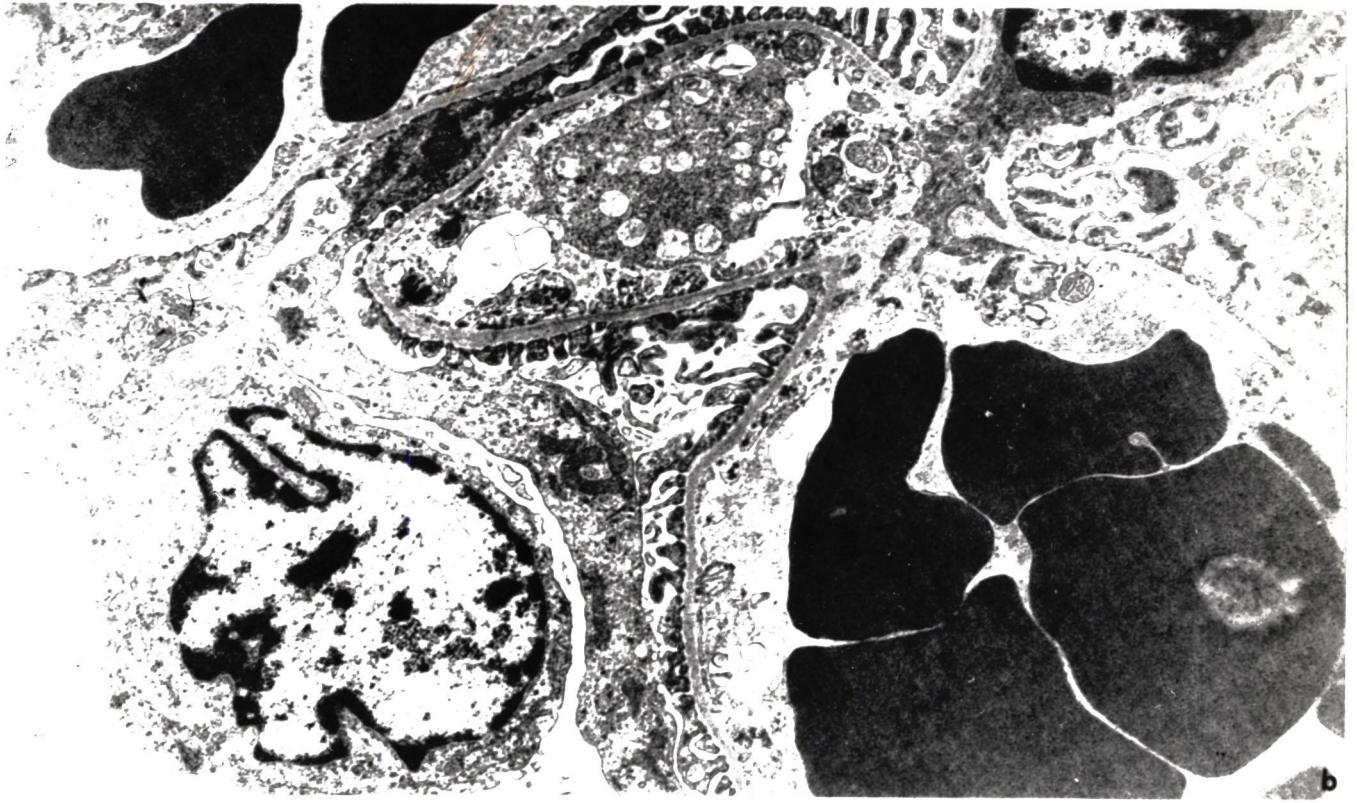
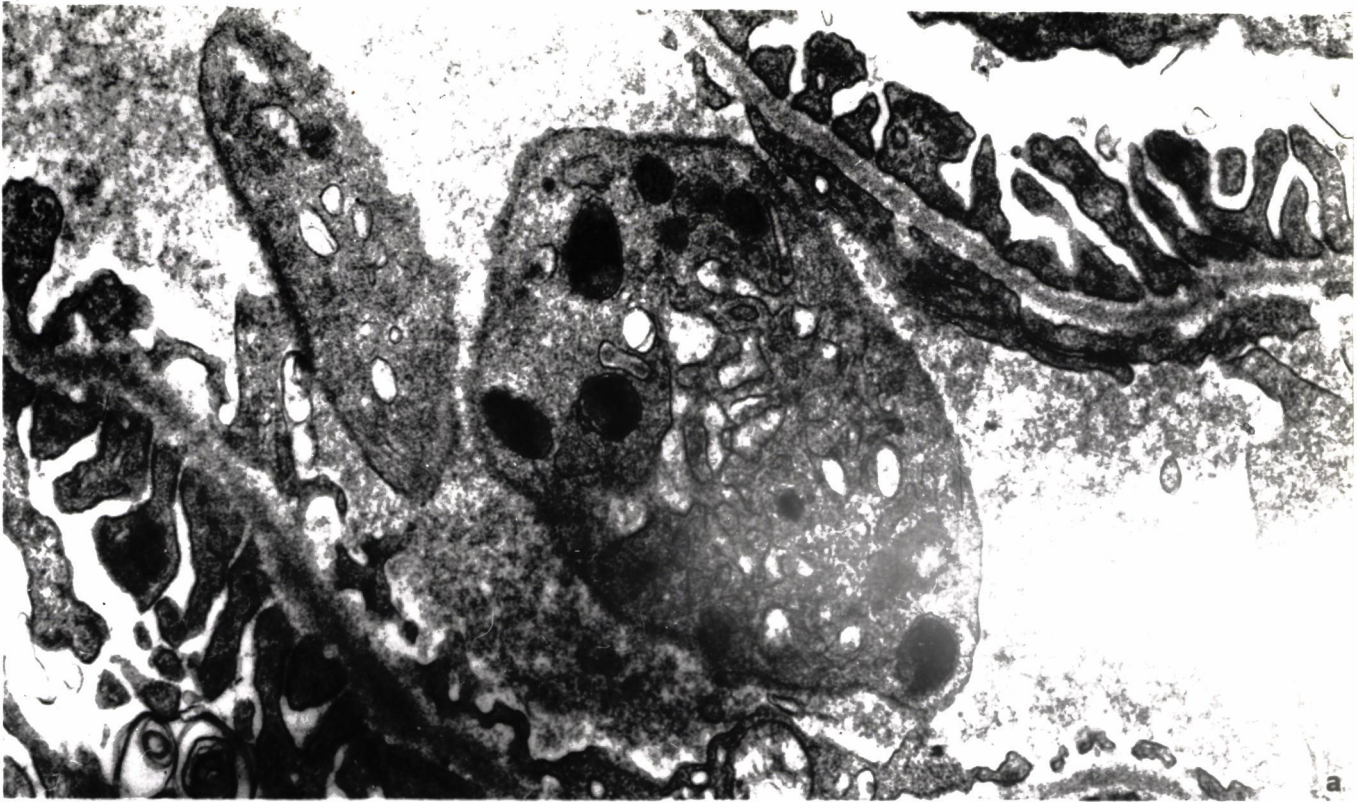
LAMINA 5

Lámina 6

6-a. - Sistema tubular plaquetario dilatado.

6-b. - Formación de un microtrombo.





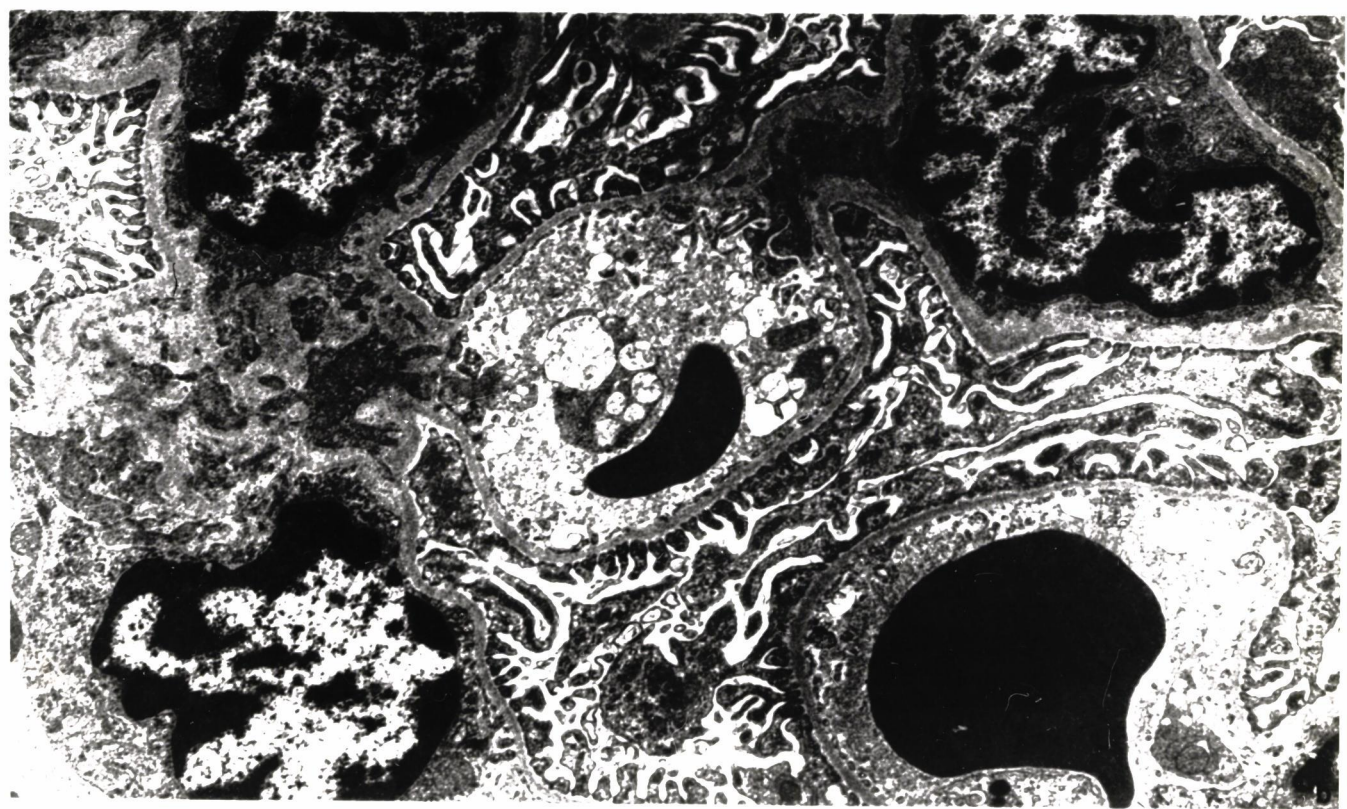
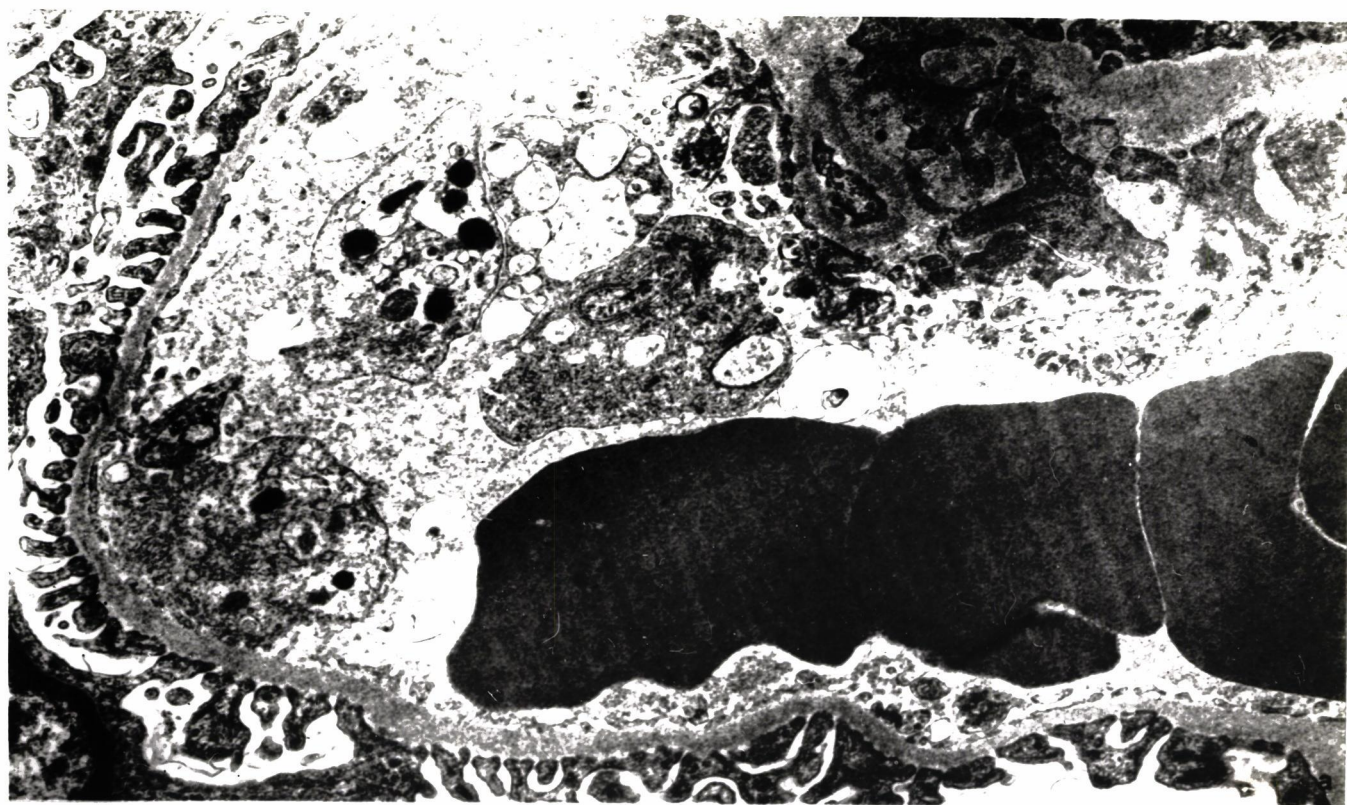
LAMINA 6

Lámina 7

7-a.- Degranulación plaquetaria.

7-b.- Aspecto glomerular en el que se apreciaba la alteración de la membrana basal.





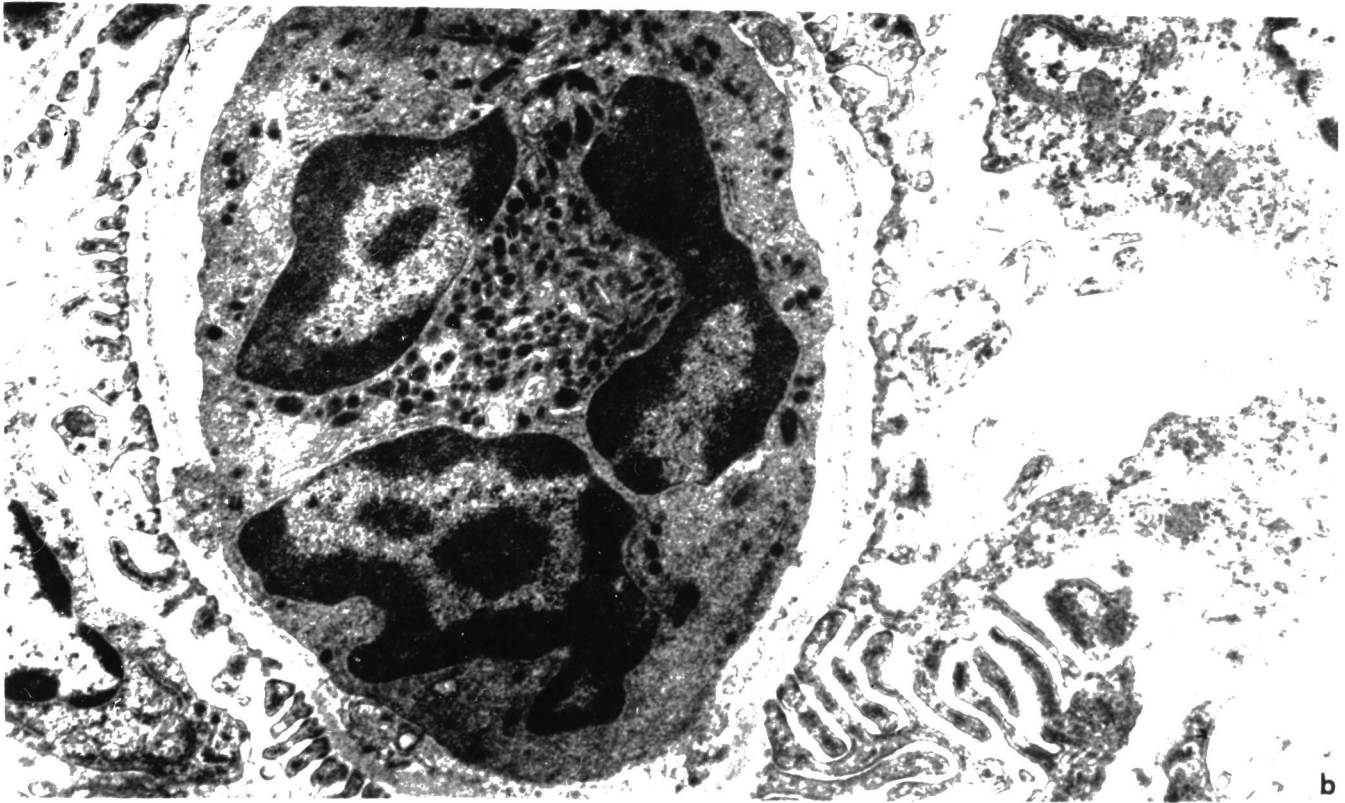
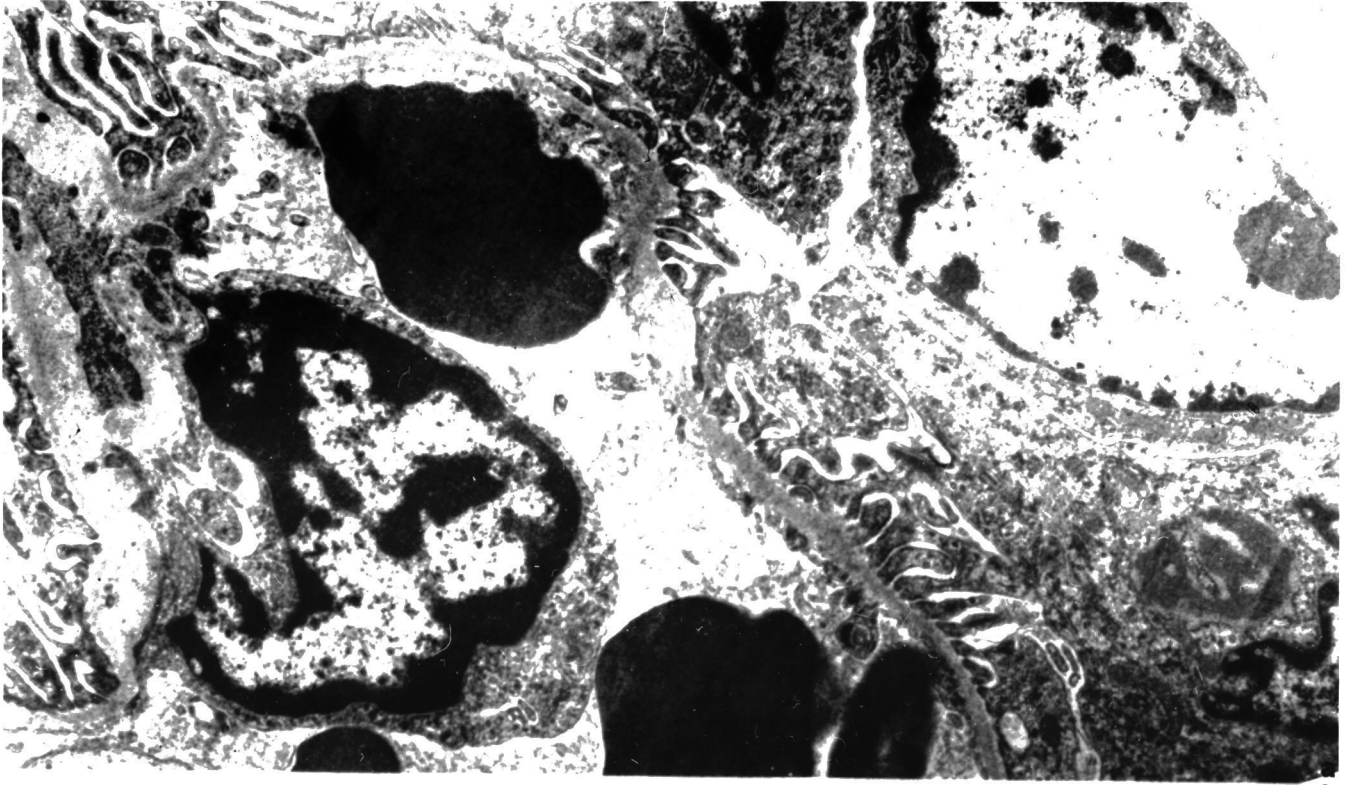
LAMINA 7

Lámina 8

8-a.- Zona de iniciación de microtrombosis.

8-b.- Elemento leucocitario relleno la luz de un capilar.



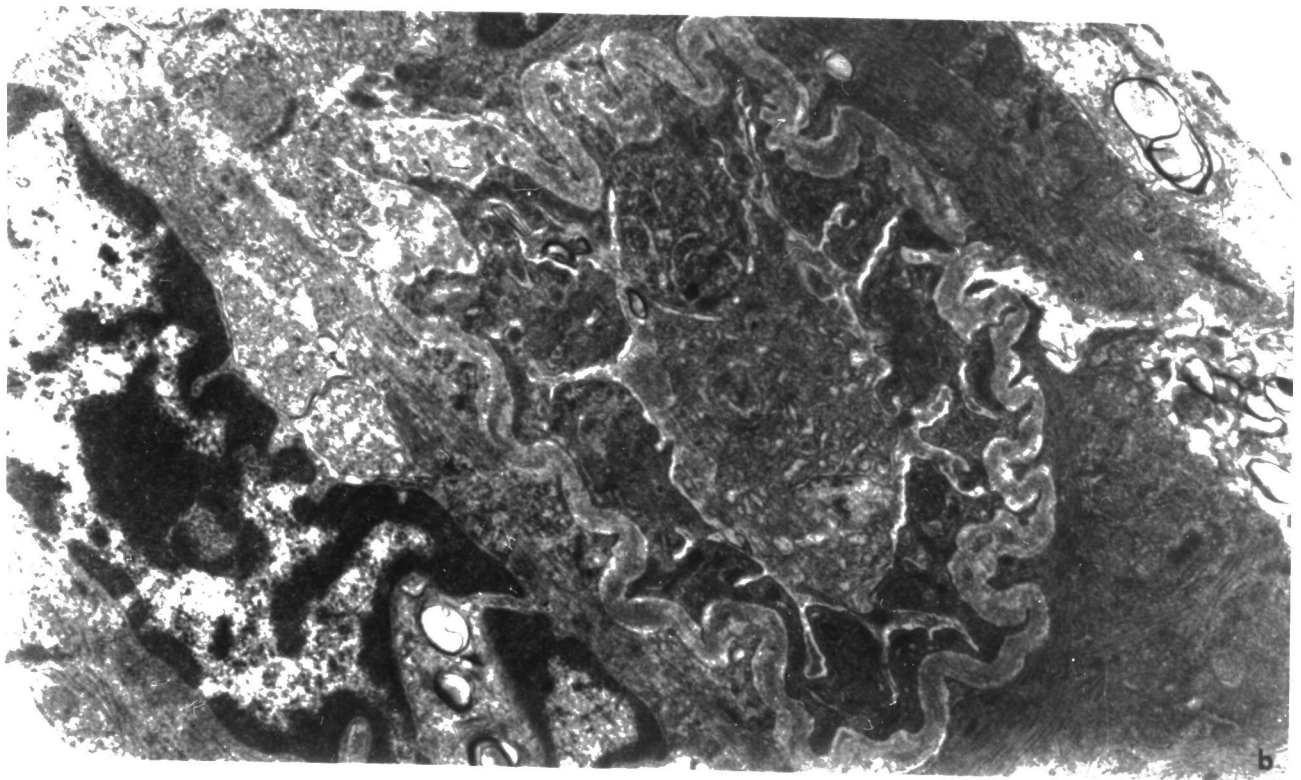
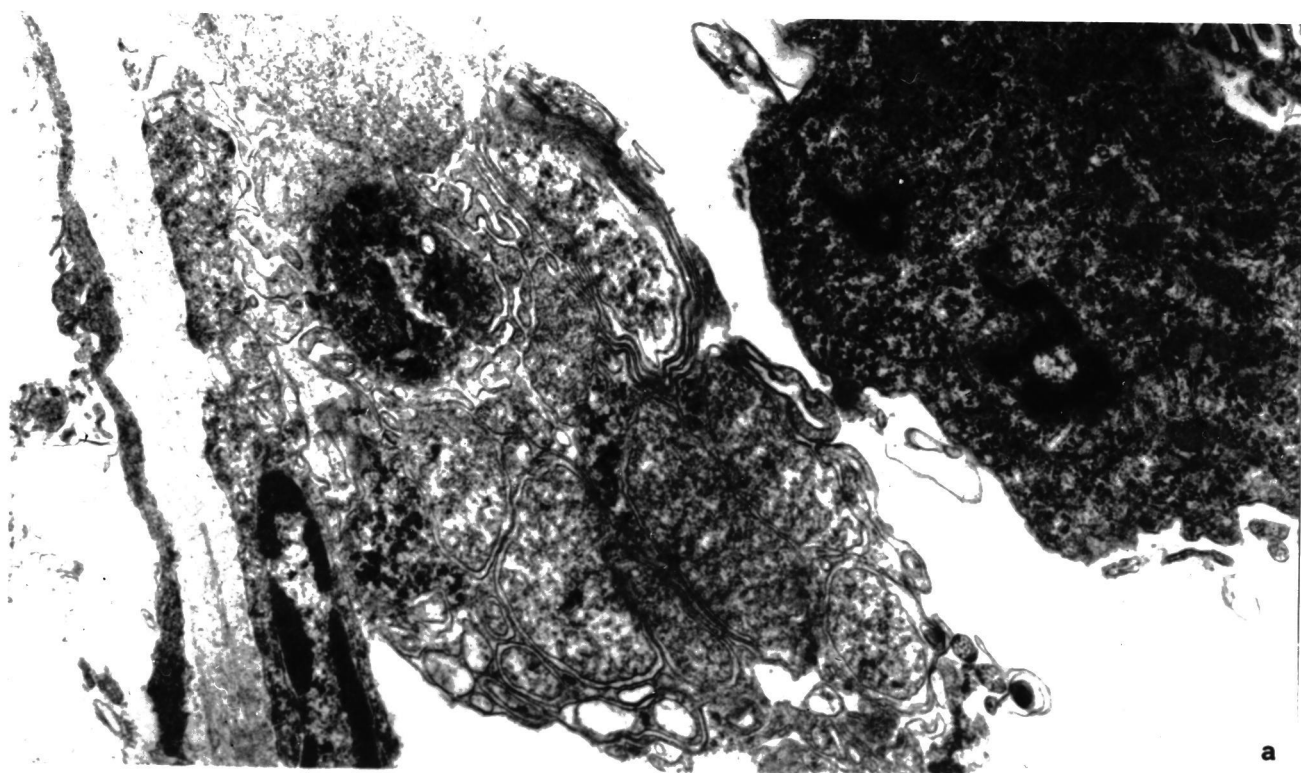


LAMINA 8

Lámina 9

9-a.- Exudado celular adherido a la cápsula de Bowman.

9-b.- Fenómeno de microtrombosis en el interior de una arteriola.



LAMINA 9

## Lámina 10

10-a.- A mayor aumento observamos la conservación de la lámina elástica de una arteriola donde se presenta microtrombosis incipiente.

10-b.- Fenómenos de cariólisis en los nefrocitos de un tubo contorneado proximal.

10-c.- T.C.P. en el que el ribete en cepillo se conserva a pesar de la intensa actividad lisosomal.

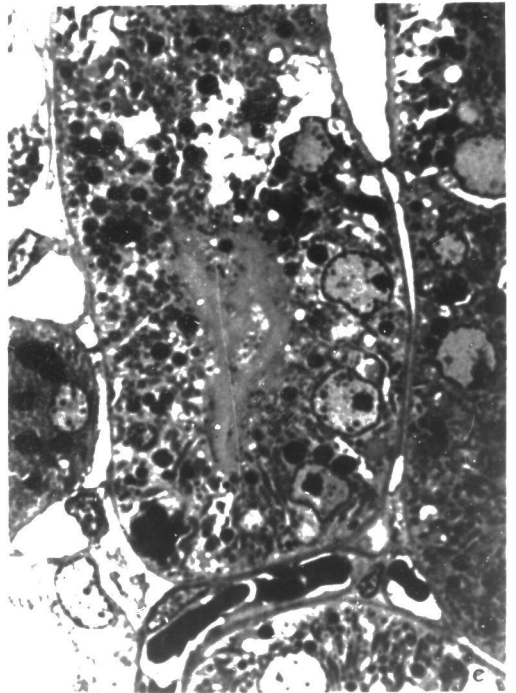
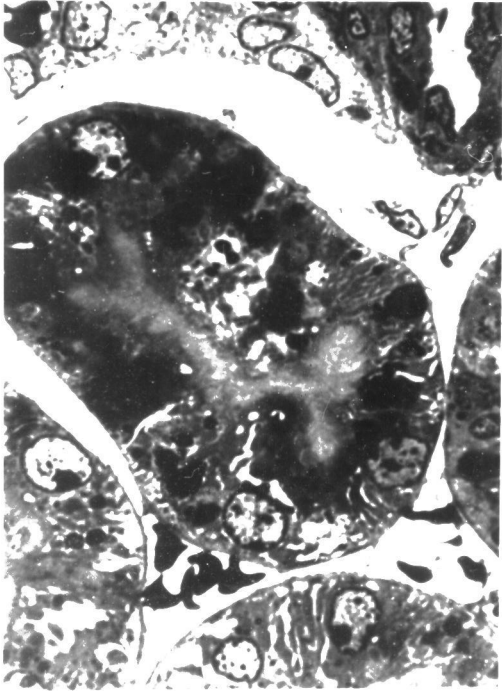
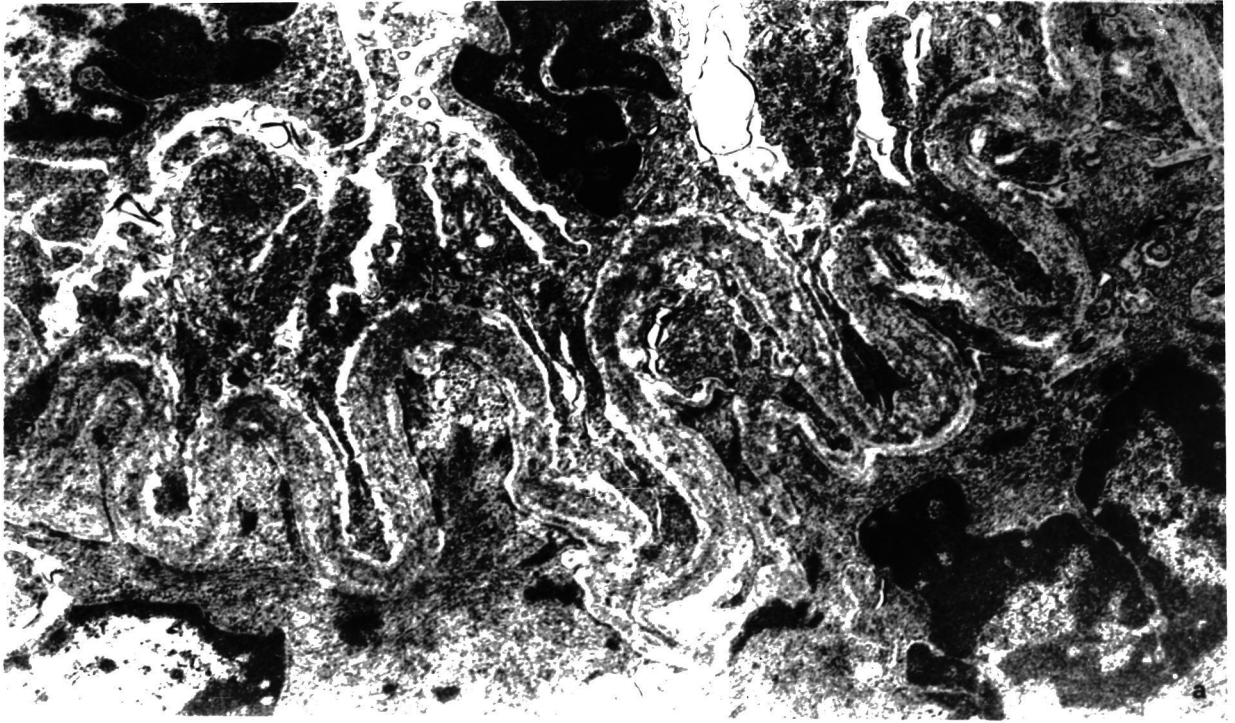


FIGURE 1



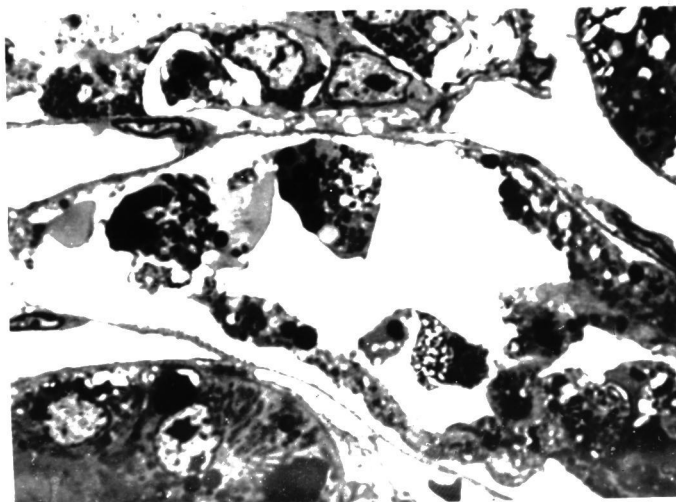
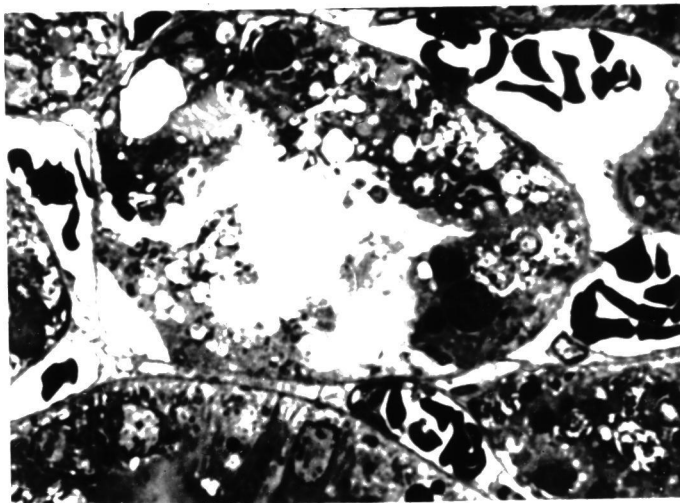
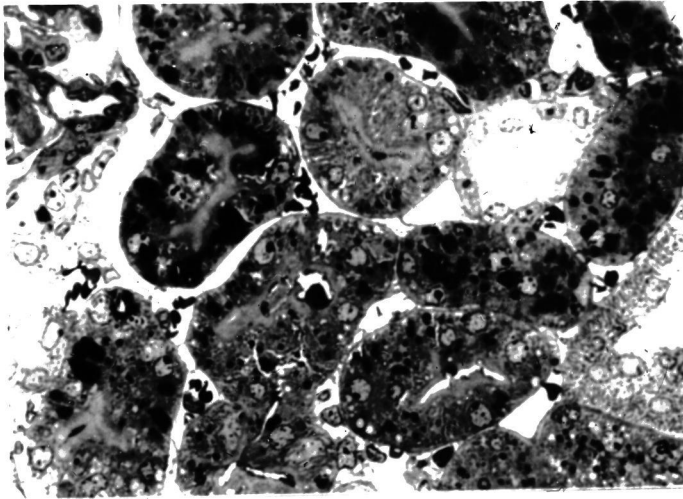
### Lámina 11

11-a.- Zona medular en la que se aprecia intensa actividad lisosomal.

11-b.- Pérdida del ribete en cepillo en los últimos estudios de la experiencia.

11-c.- A microscopía óptica, al final de la experiencia, se puede observar que solo la membrana basal queda intacta.





LAMINA 11

Lámina 12

12-a. - Luz del T.C.P. repleta de restos celulares que forman figuras mielínicas.

12-b. - A mayor aumento vemos los restos celulares intratubulares con disposición citosegregosómica.

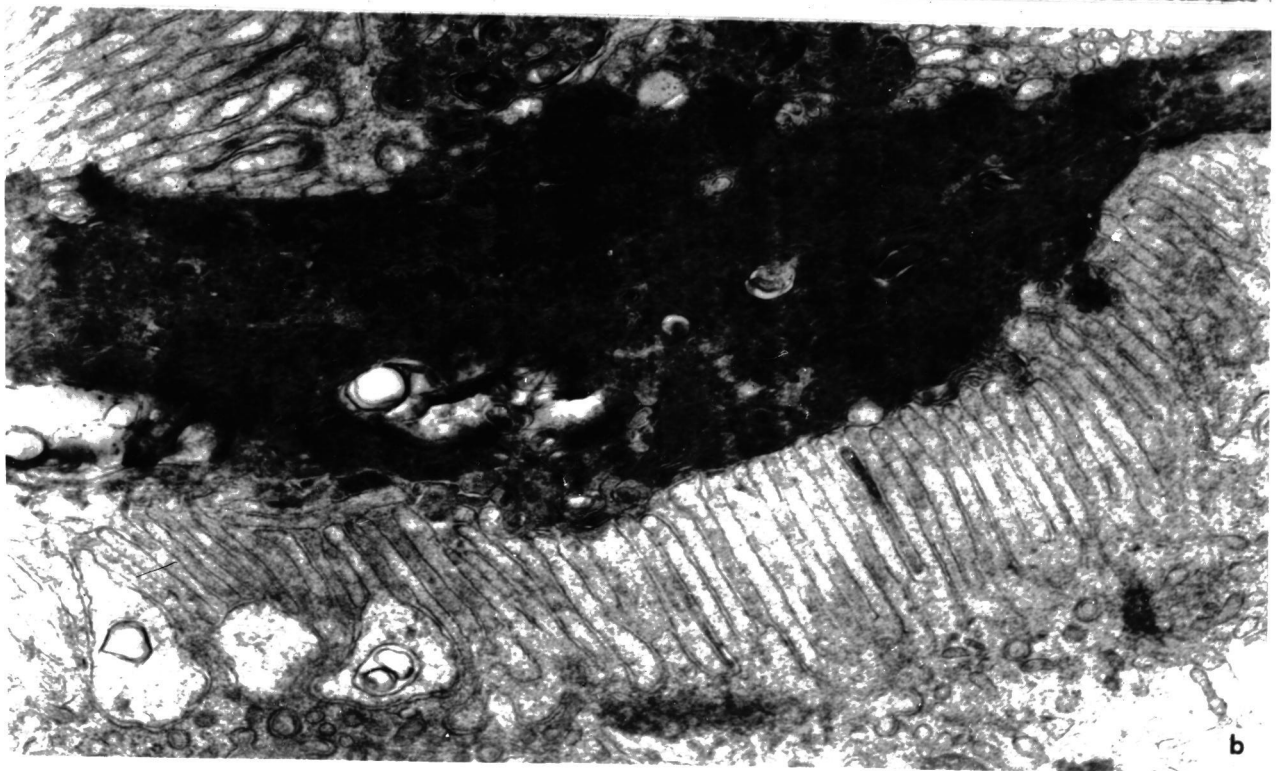
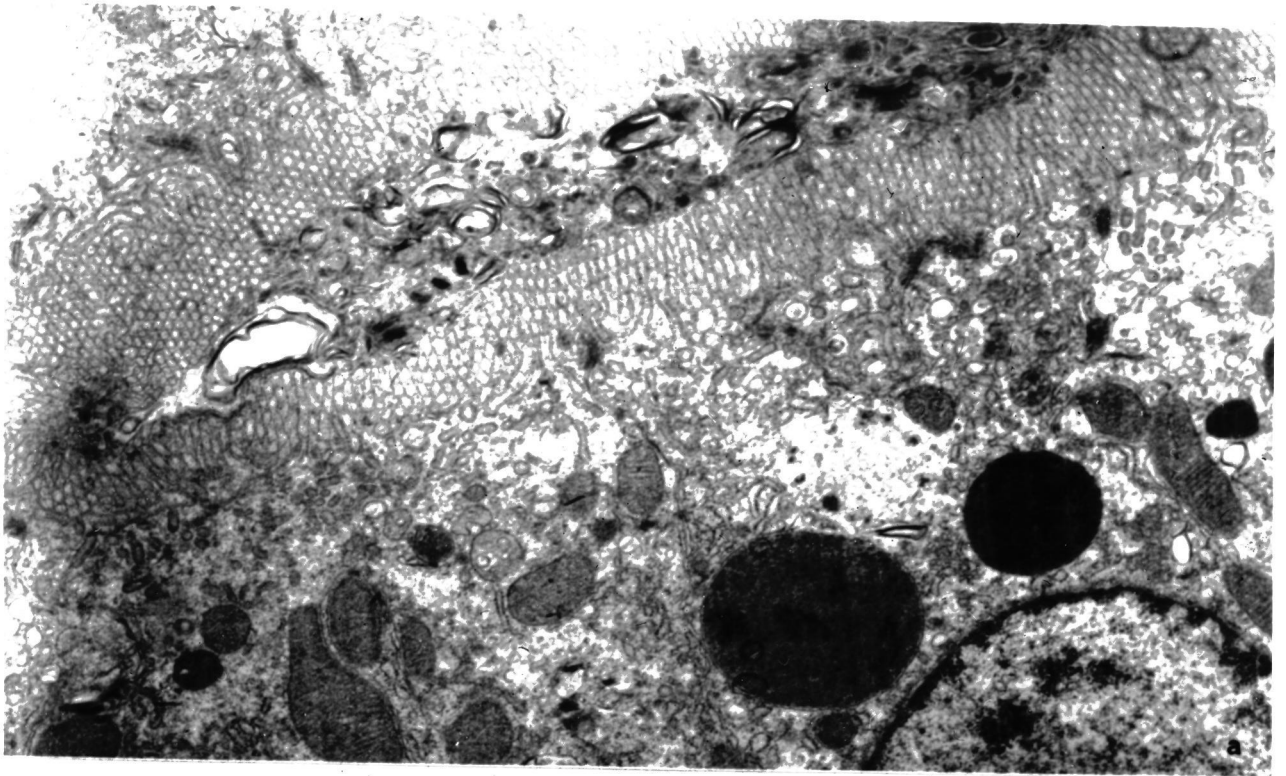
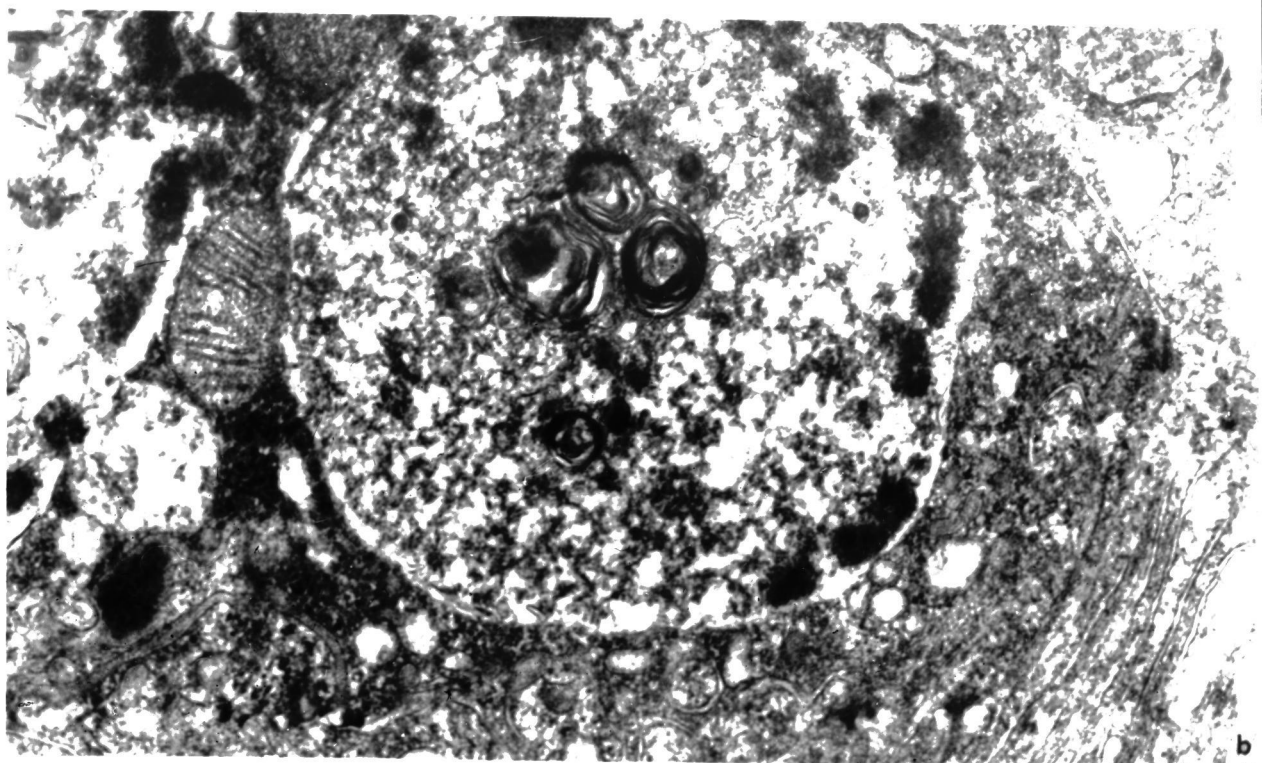
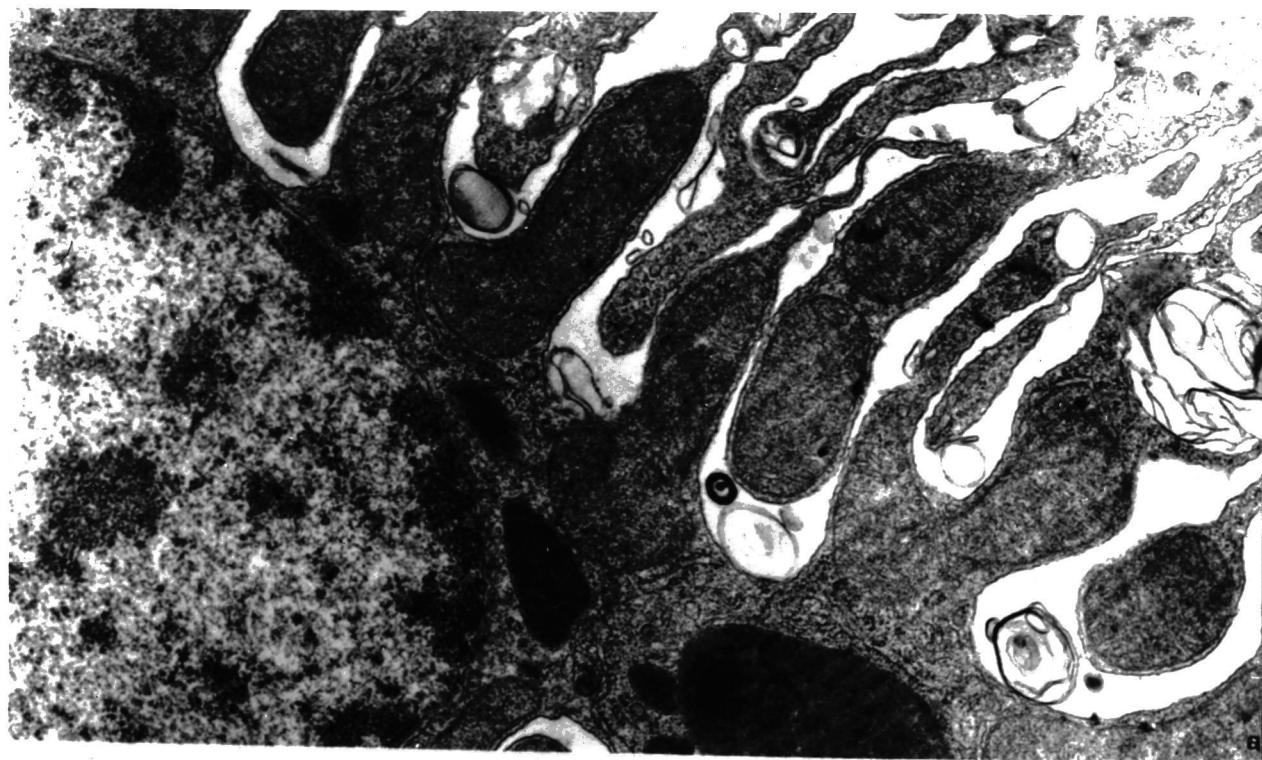


Lámina 13

13-a. - Pliegues basales muy dilatados y alteraciones mitocondriales.

13-b. - Citosegregosoma.



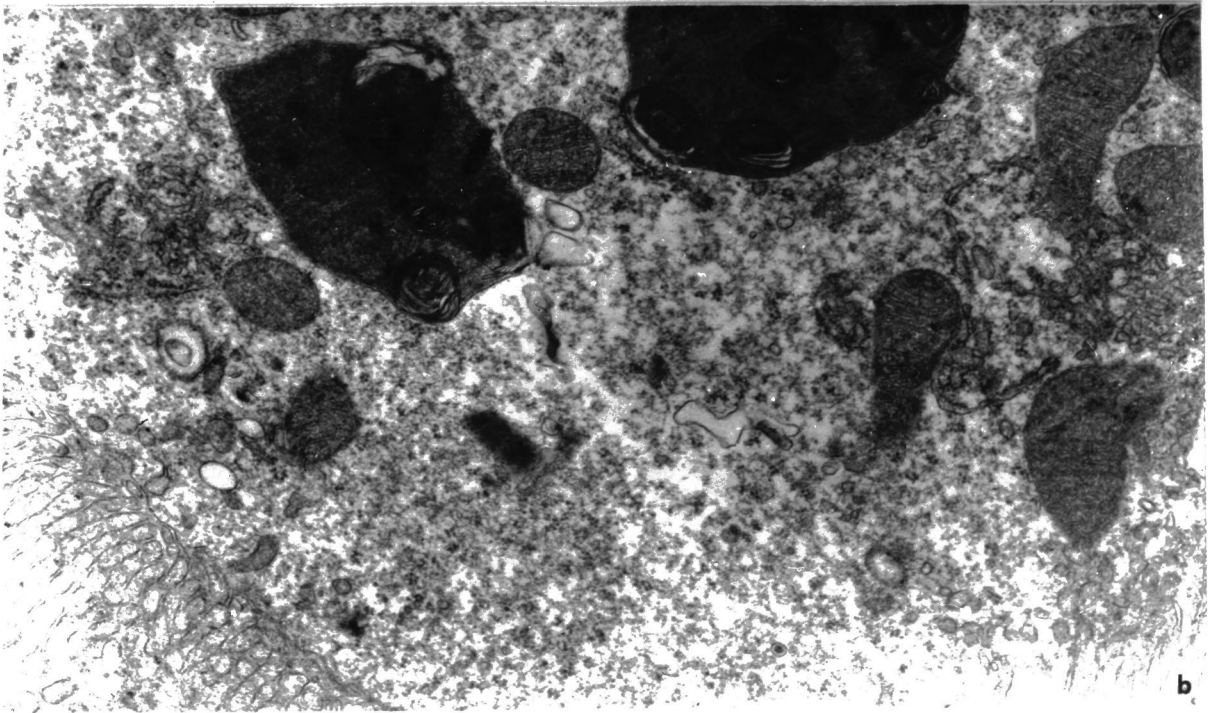
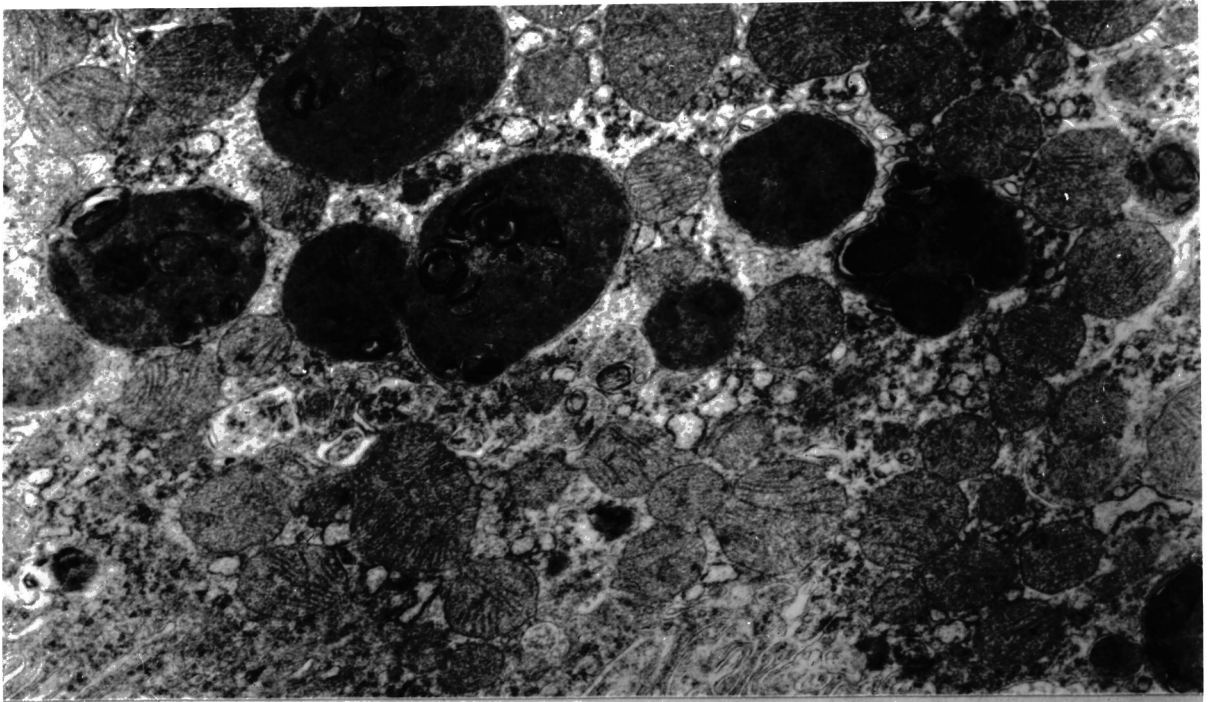
LAMINA 13

Lámina 14

14-a. - Segregosomas en el tubo contorneado proximal.

14-b. - Zona apical del T.C.P. en el que se aprecia un citoplasma homogéneo.





LAMINA 14

Lámina 15

15-a.- T.C.P. con lisosomas, vacuolas autofágicas, núcleo apoptótico, ribete en cepillo conservado.

15-b.- Vacuolas lipídicas.



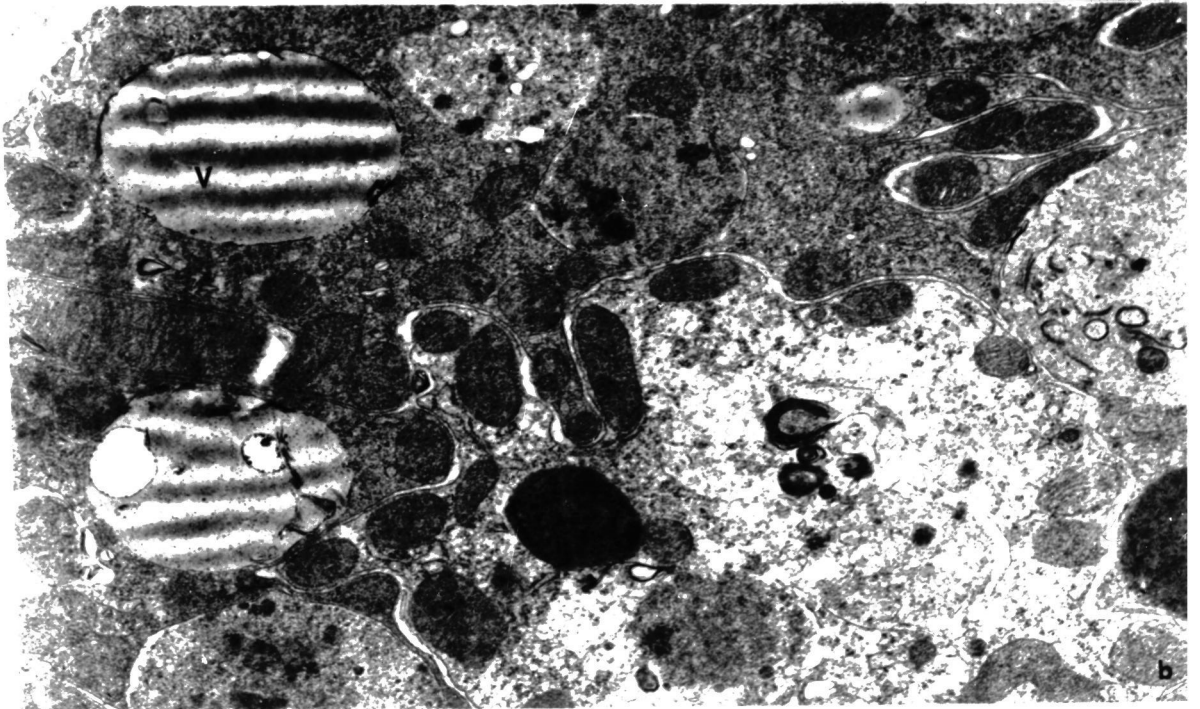
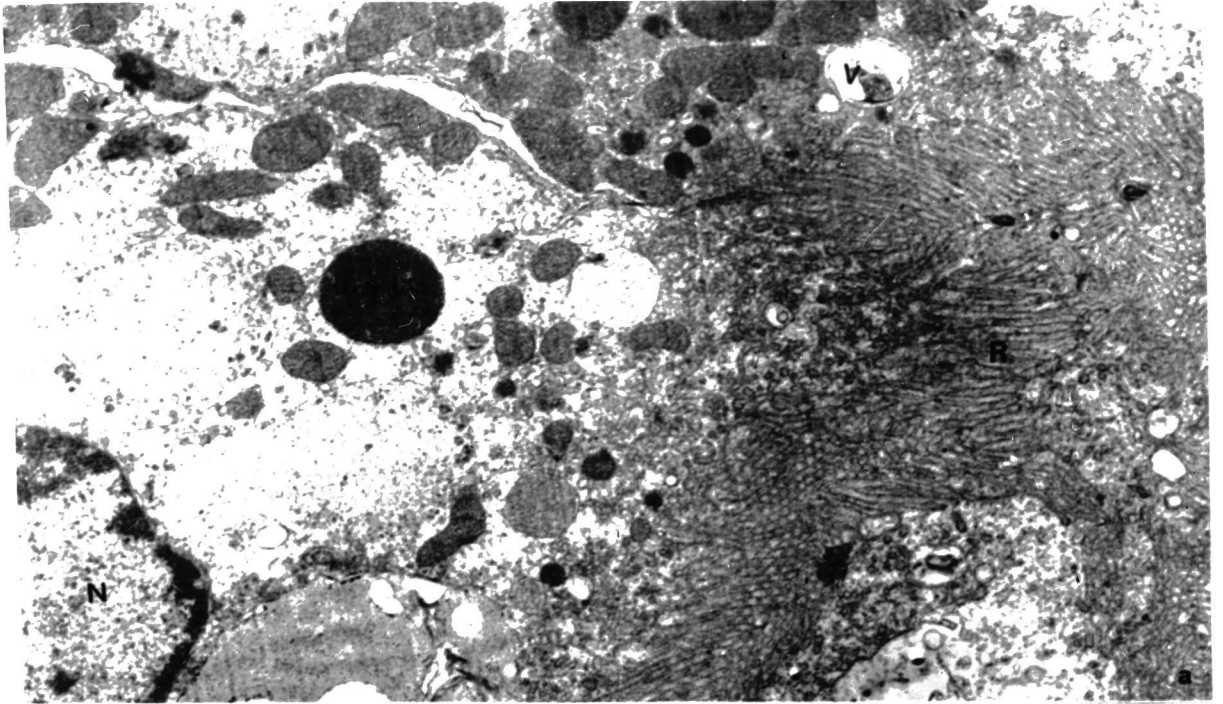


Lámina 16

16-a. - T.C.P. lindante con un vaso con alteración endotelial por fu  
sión de un linfocito.

16-b. - Pliegues basales formando figuras caprichosas.

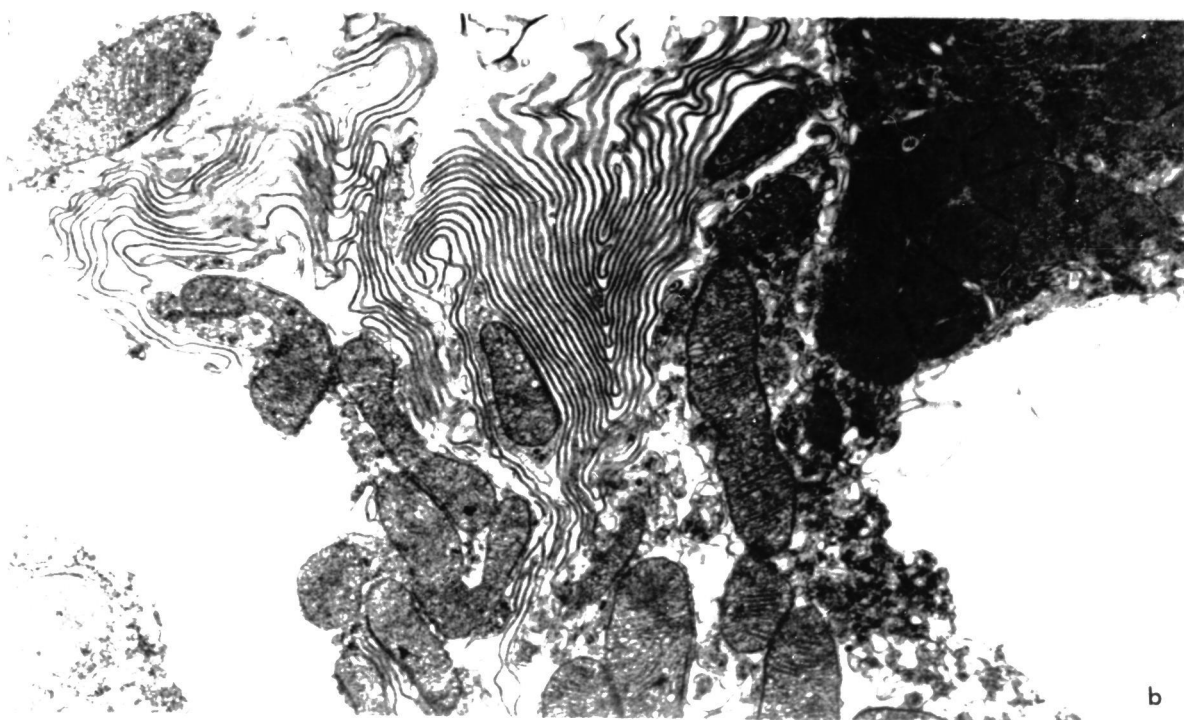
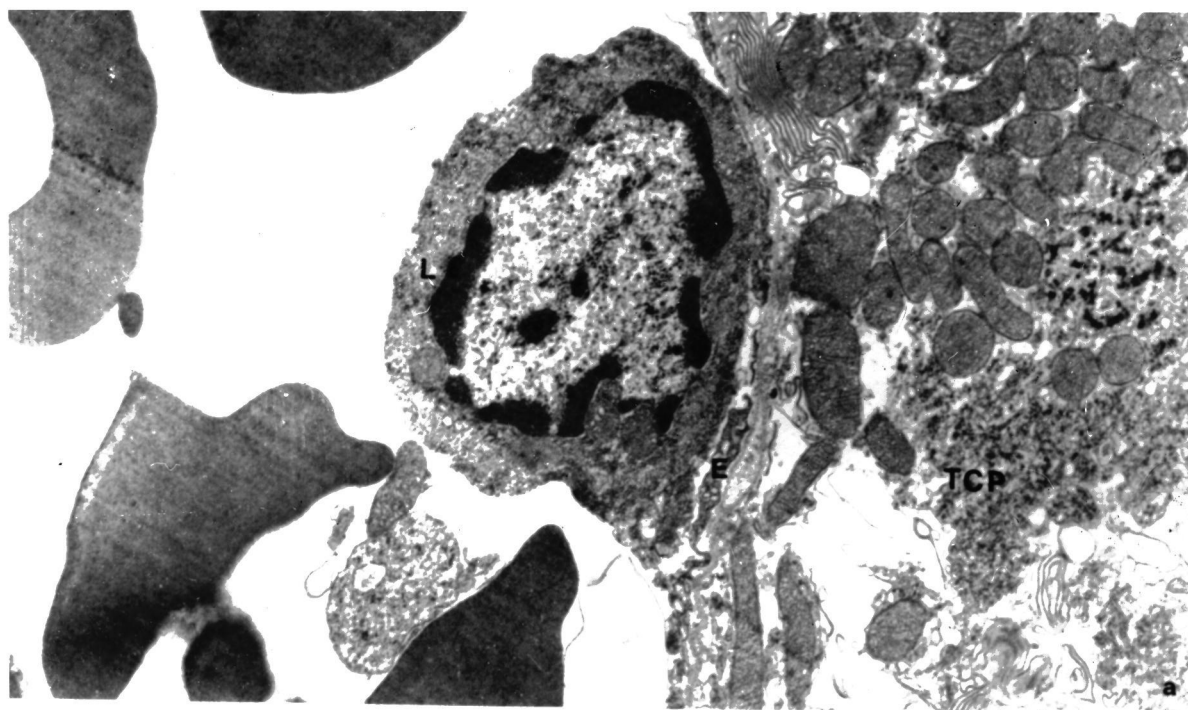
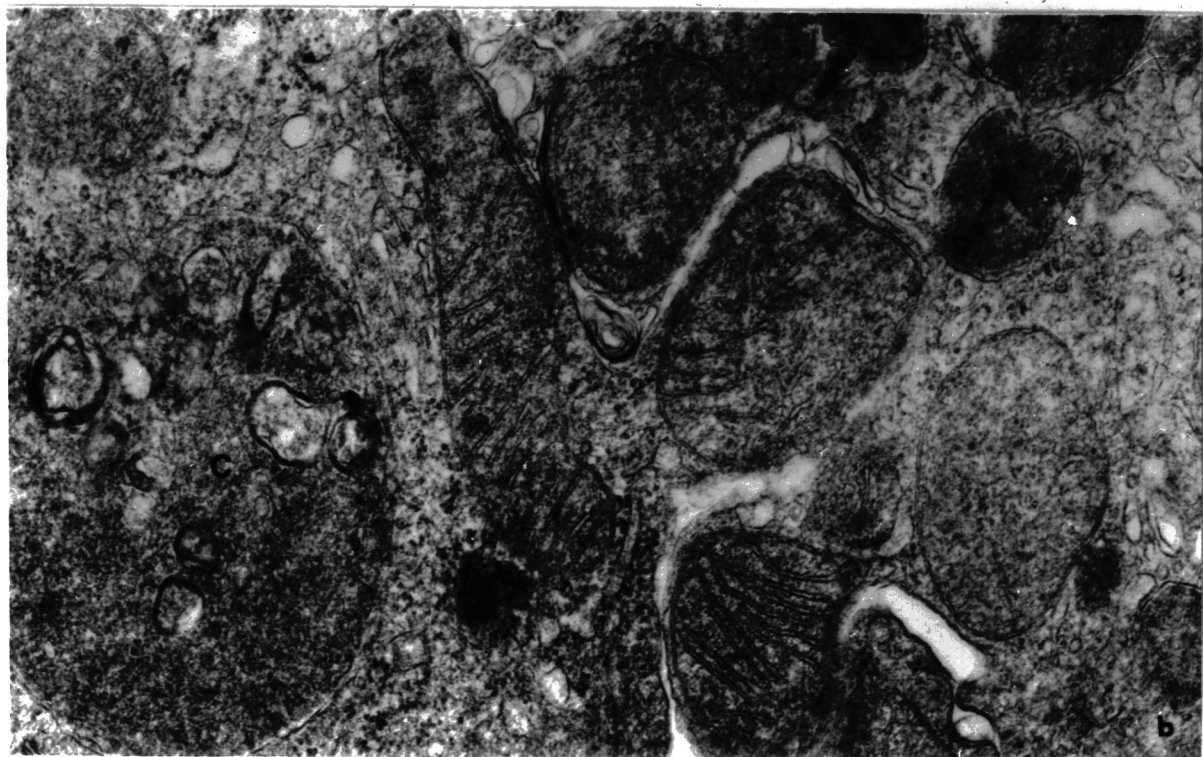
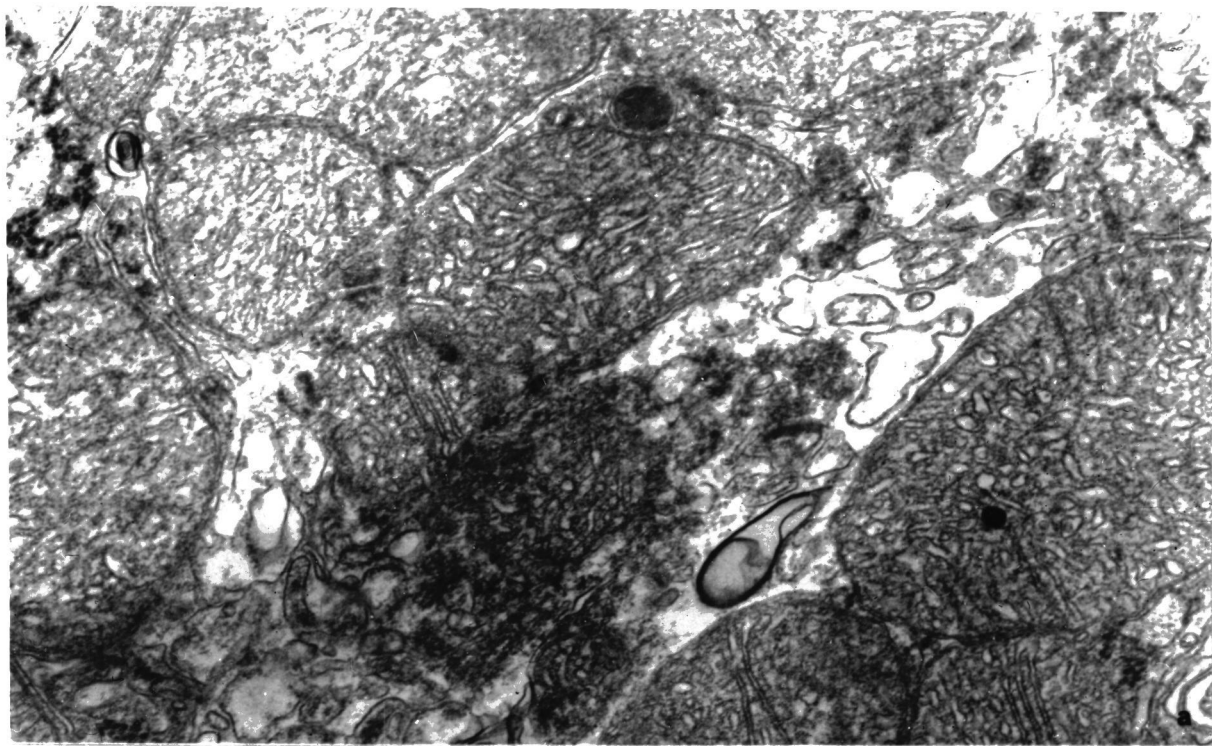


Lámina 17

17-a.- Alteraciones de las crestas mitocondriales.

17-b.- Citosomas de origen mitocondrial.



LAMINA 17

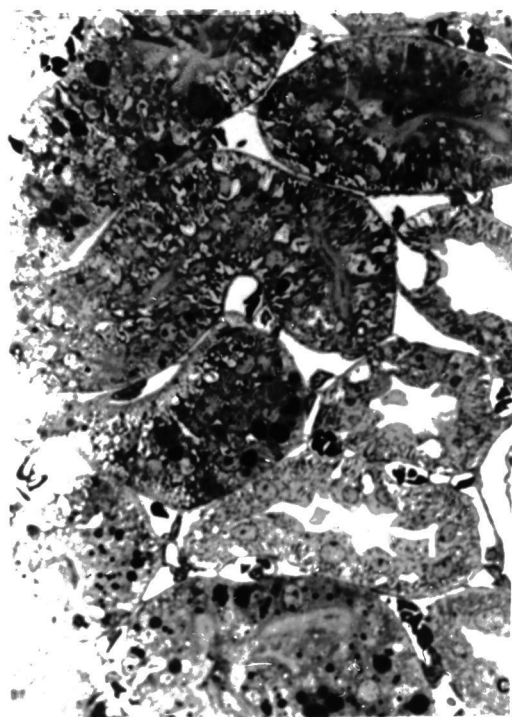
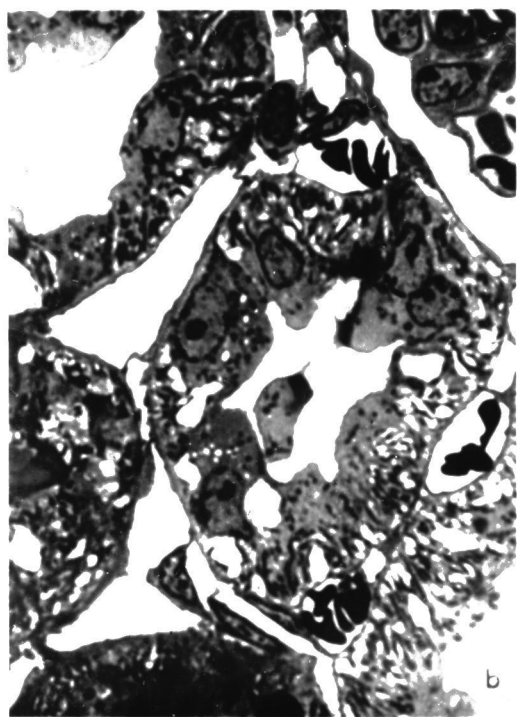
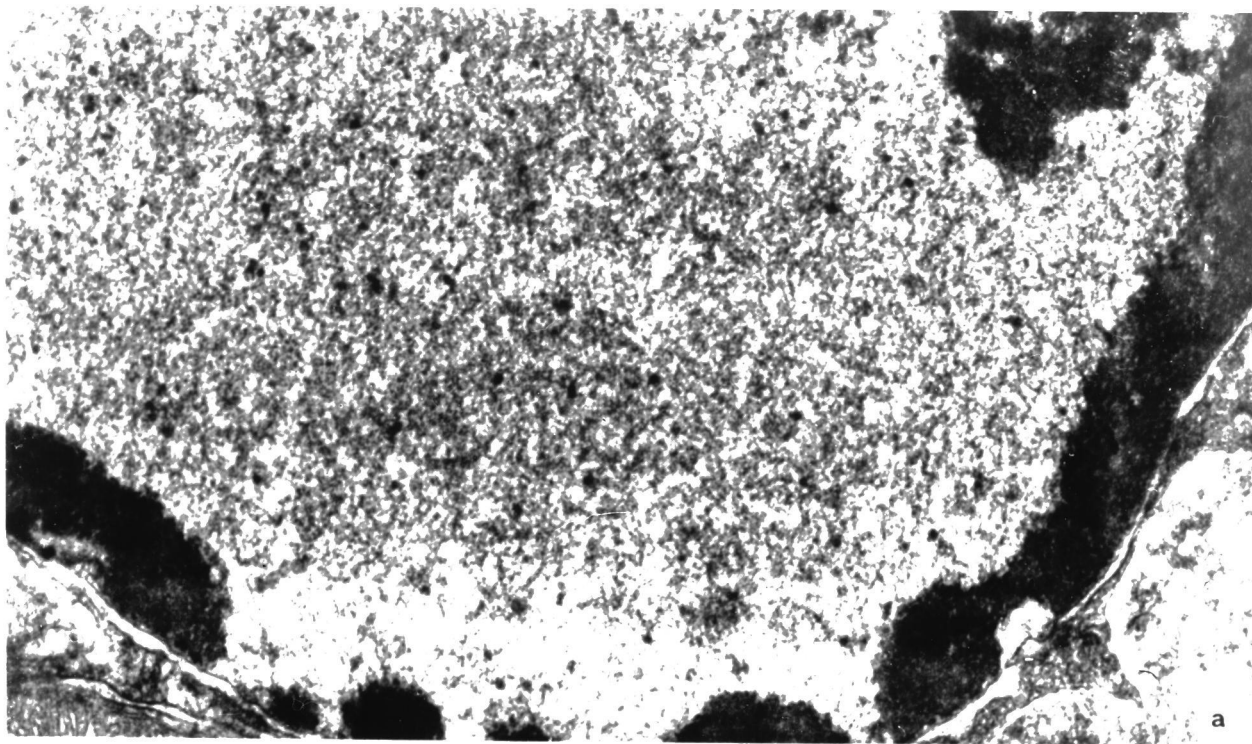
Lámina 18

18-a.- A grandes aumentos, porción nuclear donde se aprecián comienzos de kariolisis.

18-b.- T.C.P. con nefrocitos vacuolizados y elementos celulares descamados intraluminares.

18-c.- Observese la diferencia de actividad lisosomal entre el T.C.P. y el T.C.D.



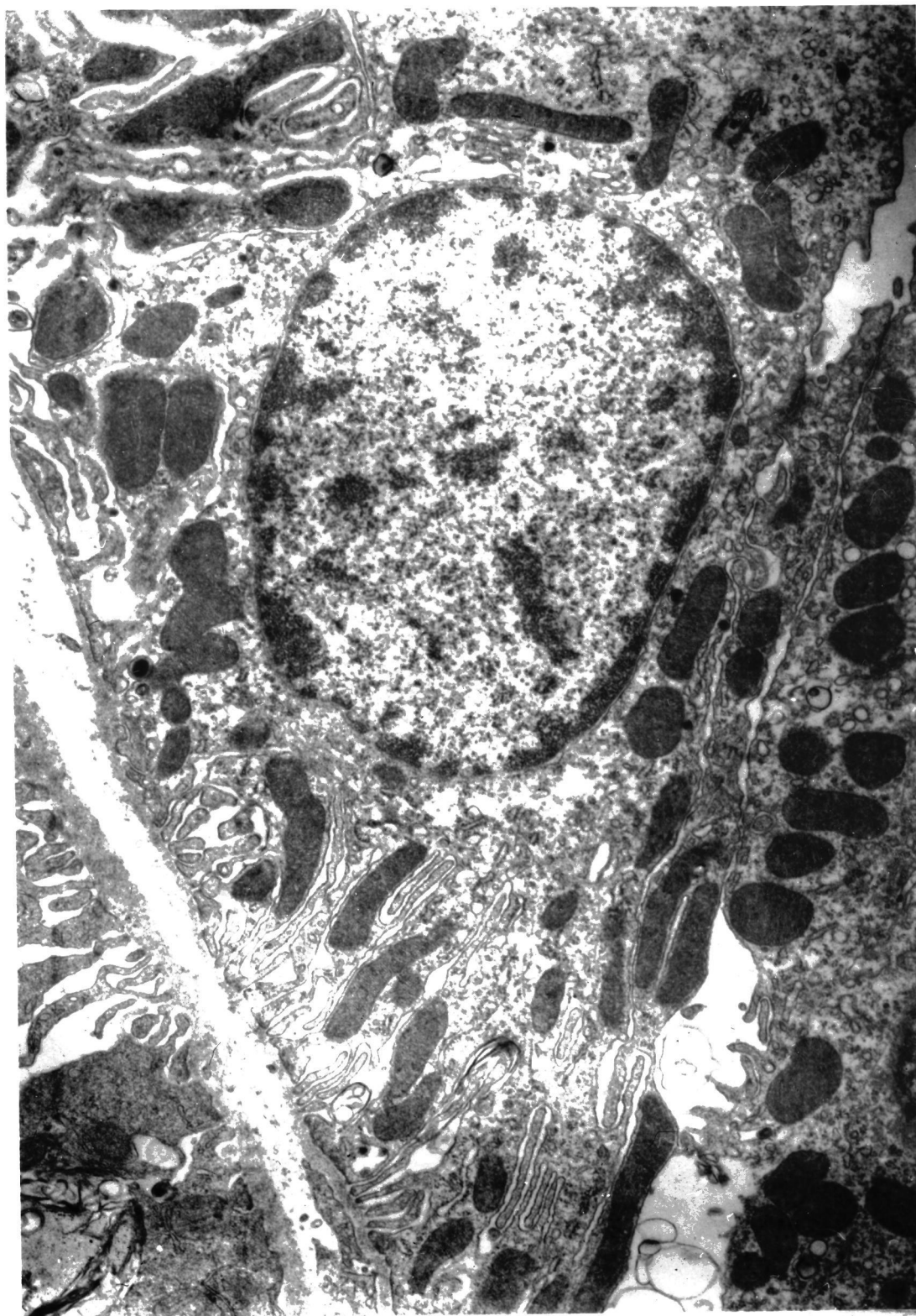


LAMINA 18

Lámina 19

Nefrocito del T.C.D. en Microscopía electrónica. Aparece la ausencia de lisosomas, abundancia de microvesículas y los espacios intercelulares.





LAMINA 19

Lámina 20

20-a.- Porciones de túbulo renales. Obsérvese las alteraciones mitocondriales del T.C.P.

20-b.- Presencia de cuerpos mieloides.

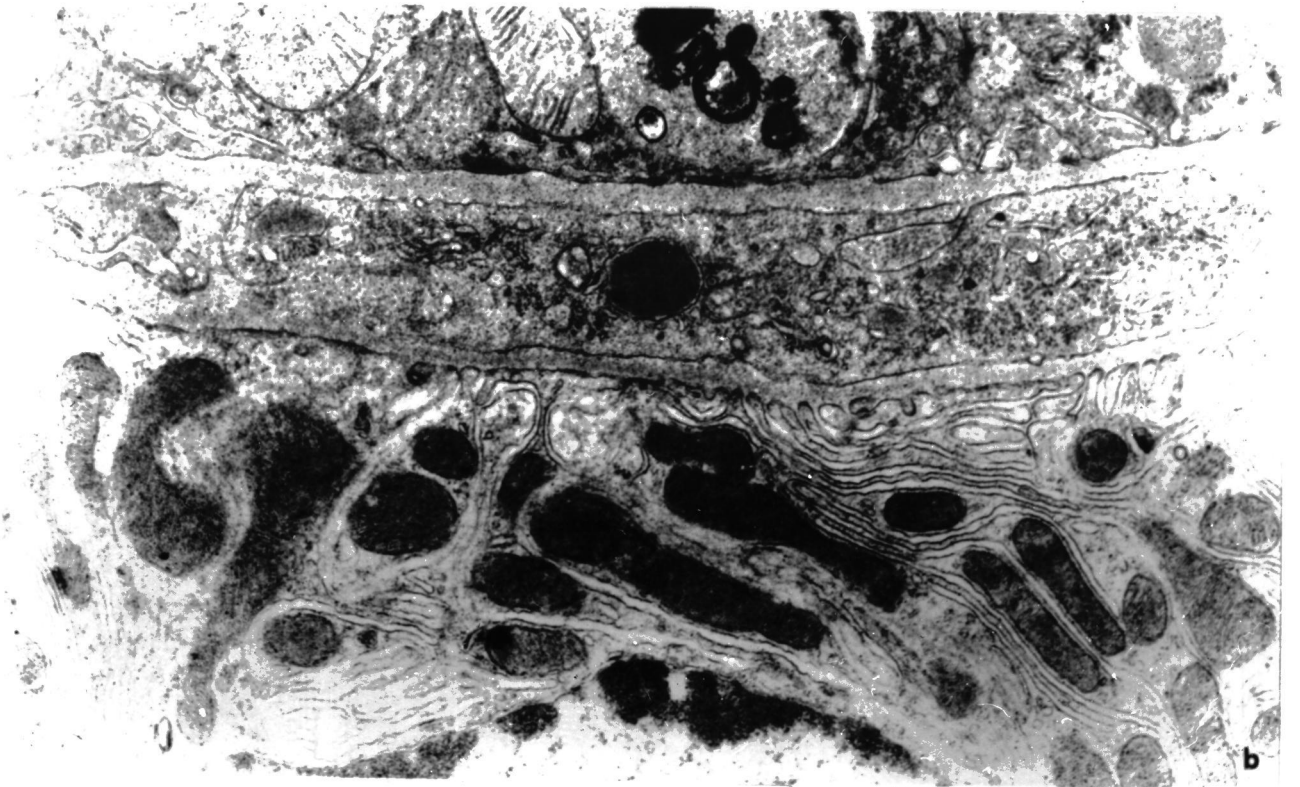
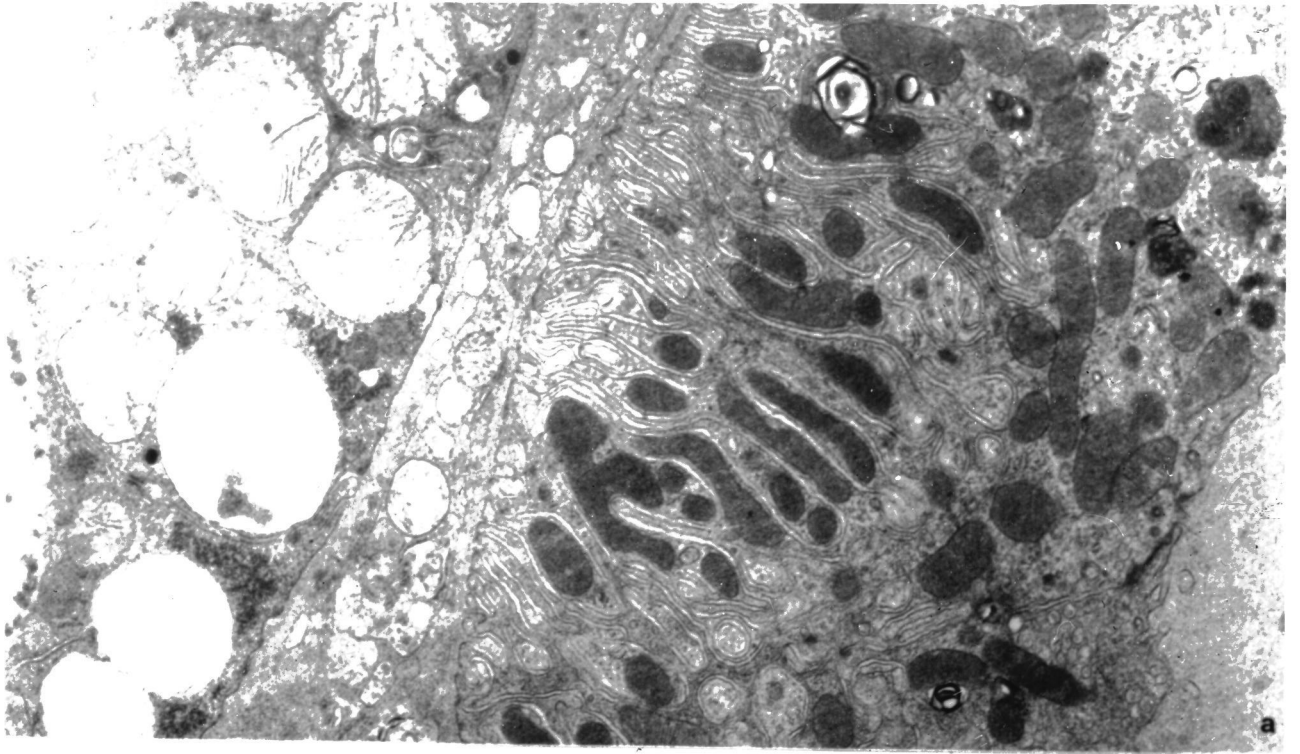


Lámina 21

21-a. - T.C.D. mostrando gran cantidad de lisosomas y cuerpos mie  
línicos.

21-b. - A grandes aumentos se aprecia la ausencia de poros en el  
endotelio tumefacto.

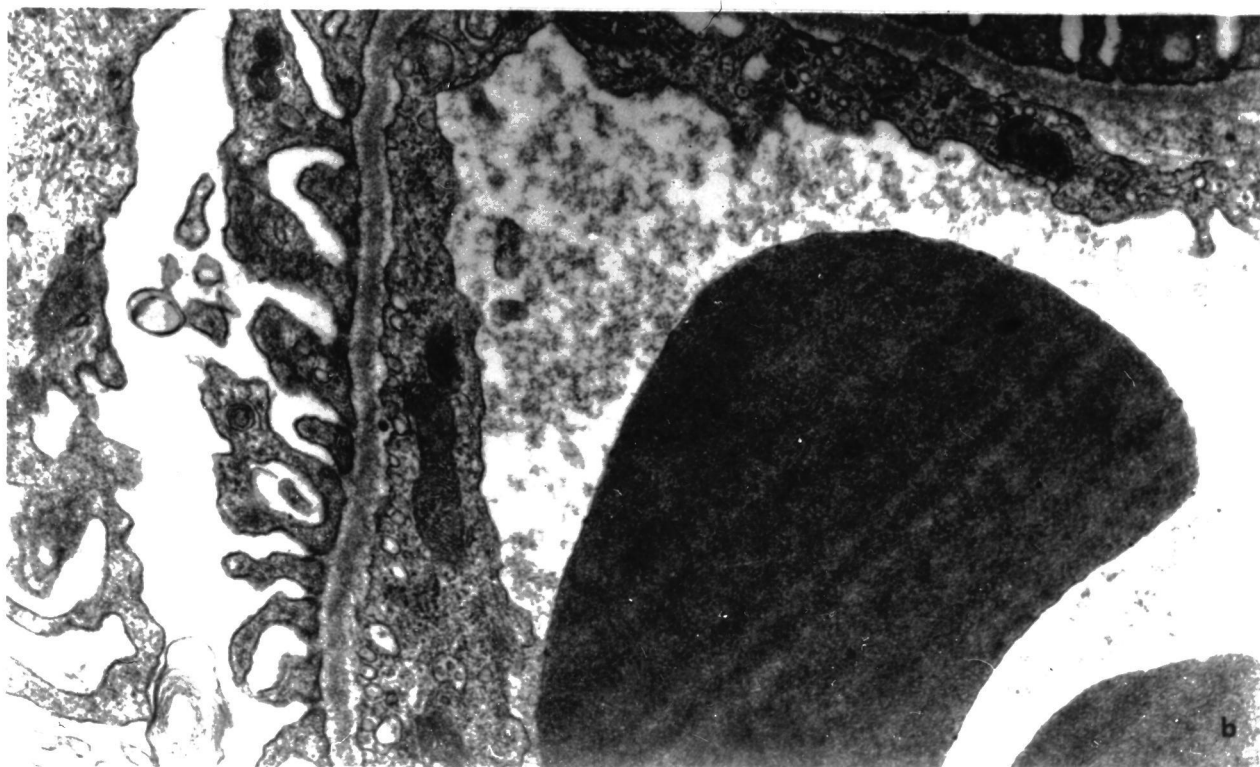
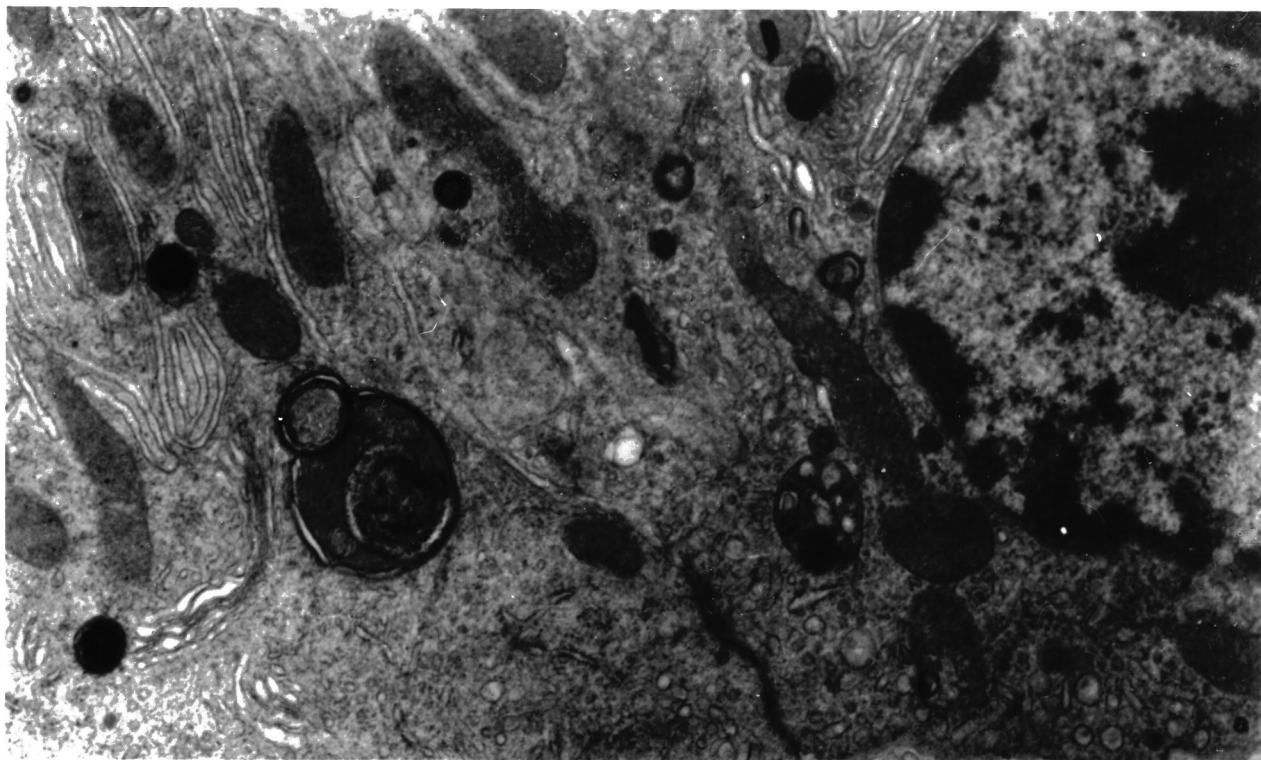


Lámina 22 (a, b)

Presencia de plaquetas en luz vascular glomerular con  
tendencia a formar trombos.



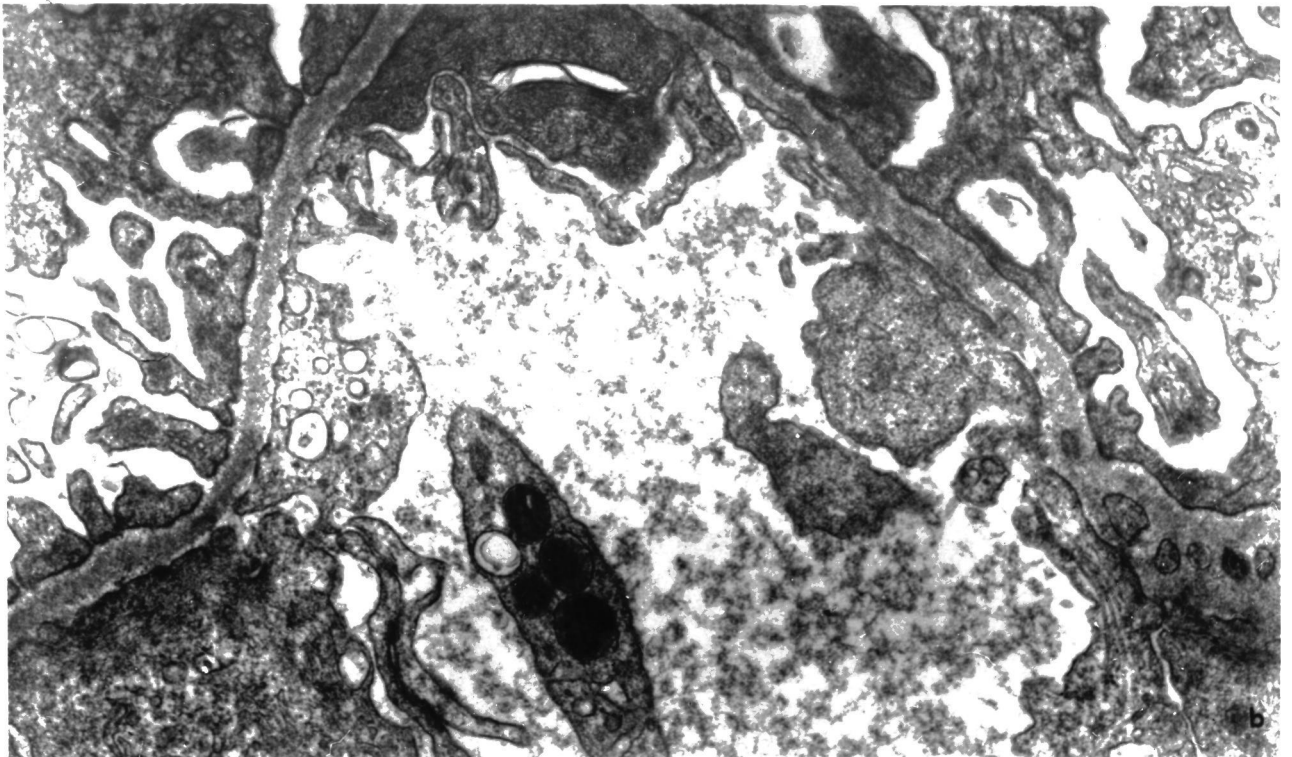
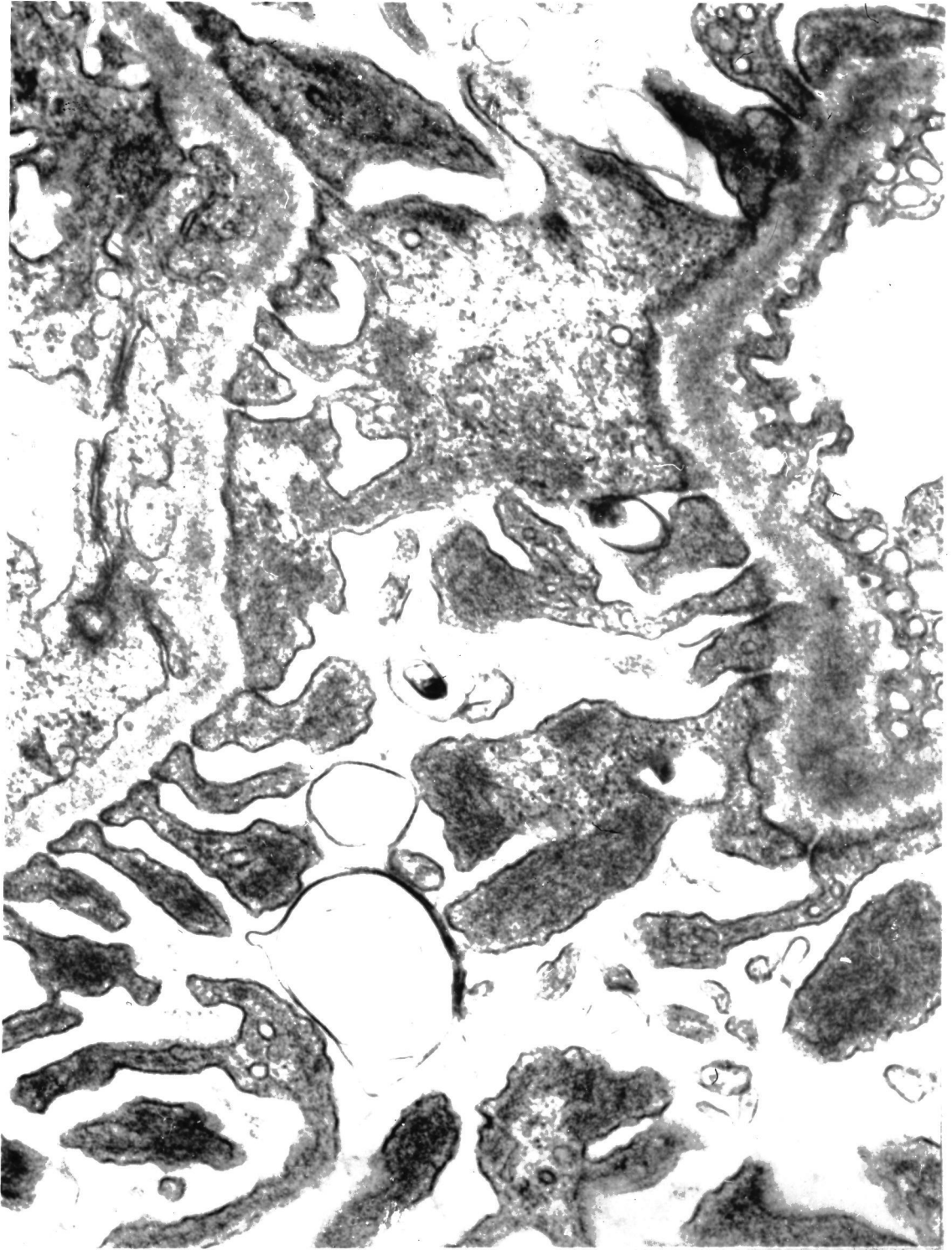


Lámina 23

Porción glomerular en la que se observa una tumefacción endotelial.





LAMINA 23

Lámina 24

24-a.- En cortes semifinos se aprecia la actividad lisosomal del T.C.P. y la dilatación de las asas vasculares.

24-b.- A mayor aumento, se ven núcleos a diferentes alturas con - cromatina poco densa en el T.C.P.

24-c.- Fenómenos de eliminación celular en la luz del T.C.D.

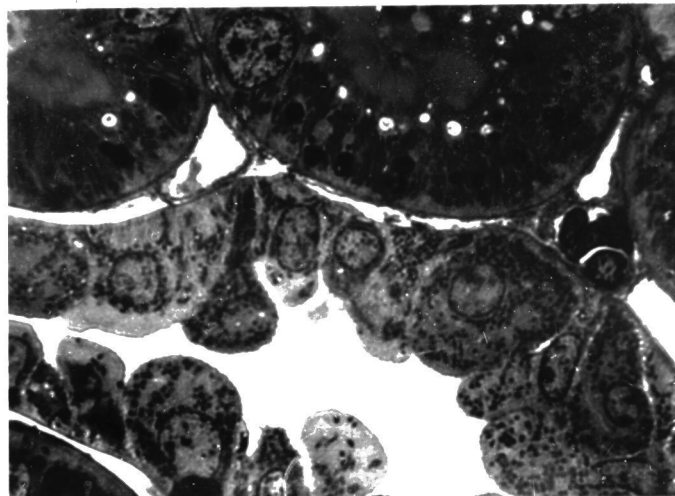
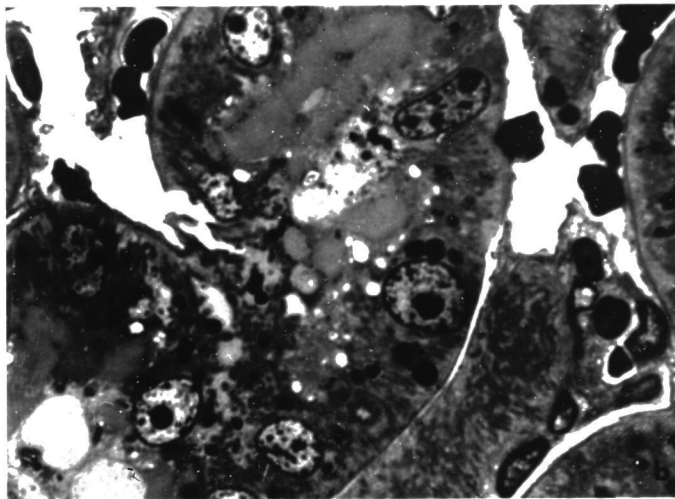
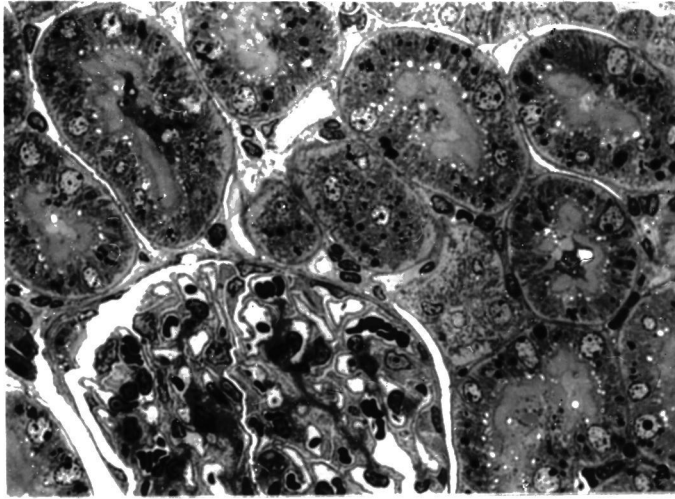


Lámina 25

25-a. - Vacuolas con cuerpos mielínicos.

25-b. - Citosegregosomas en las células del T.C.P.

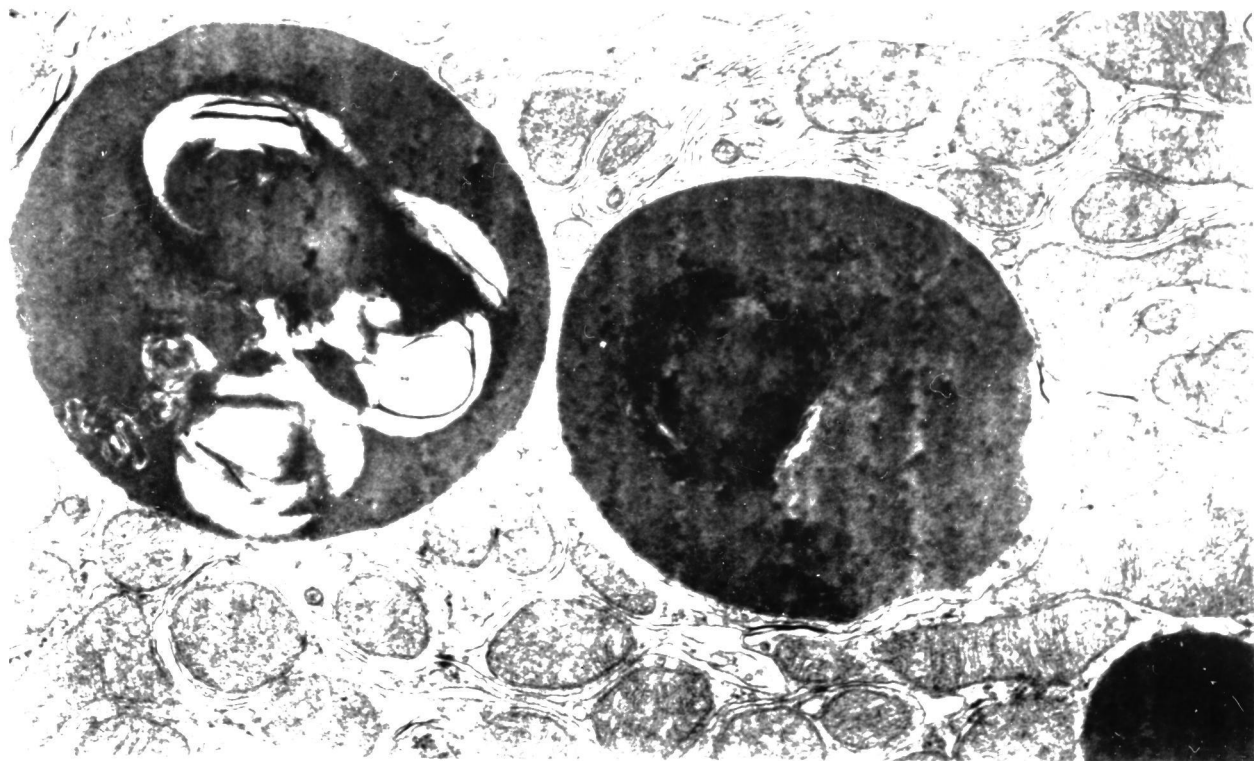
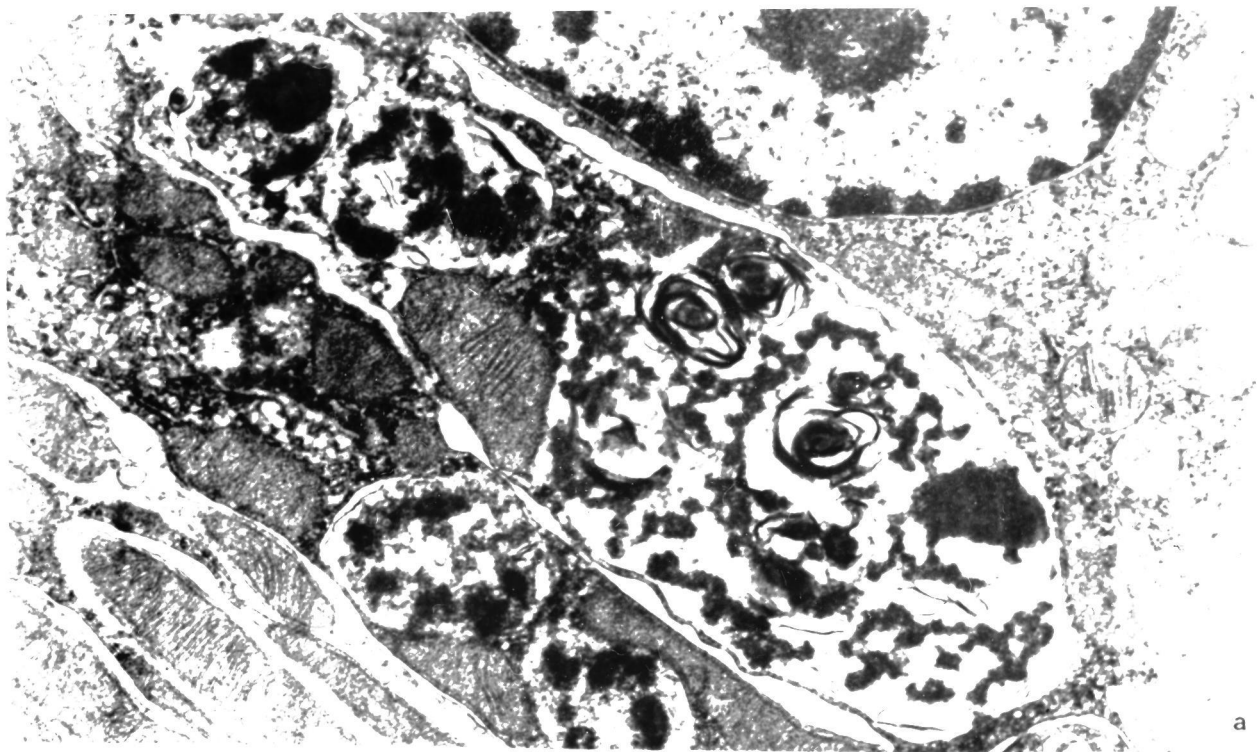


Lámina 26

26-a. - Mitocondrias tumefactas en las cercanías de un citosegregosoma.

26-b. - Presencia de vacuolas autofágicas.



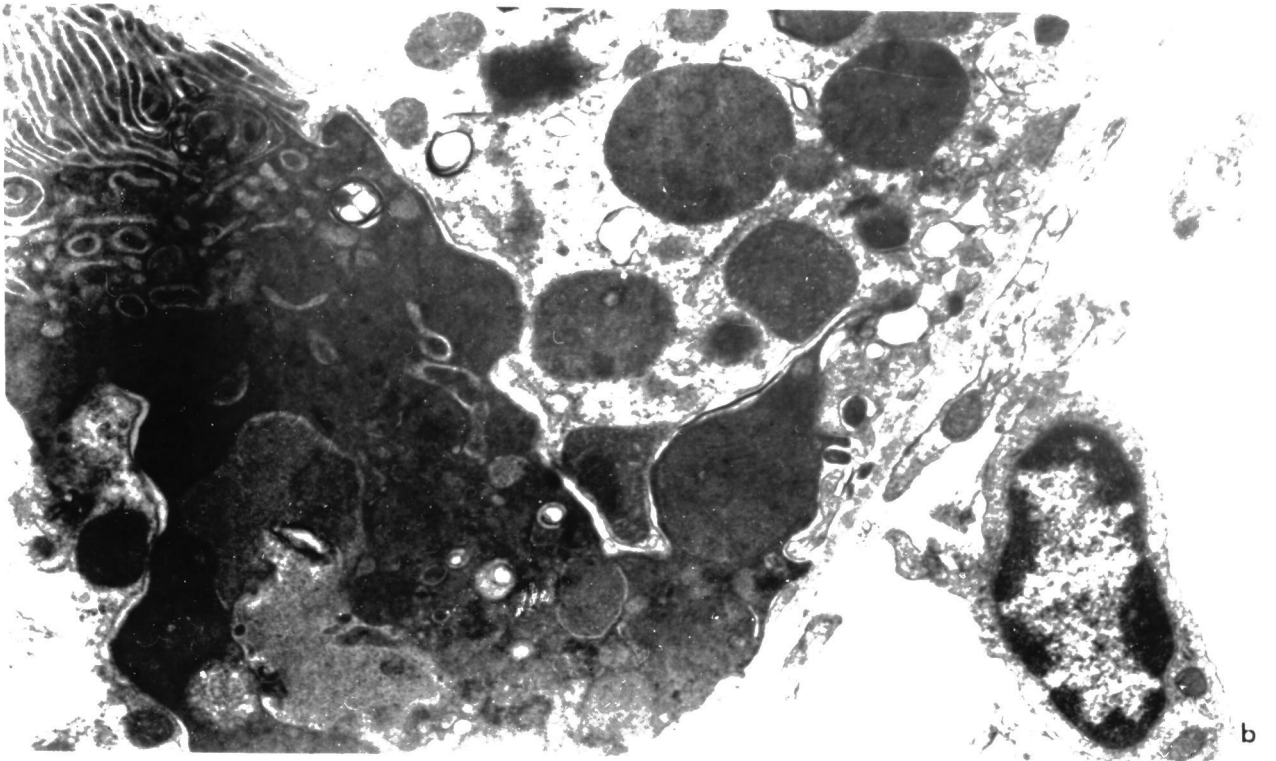
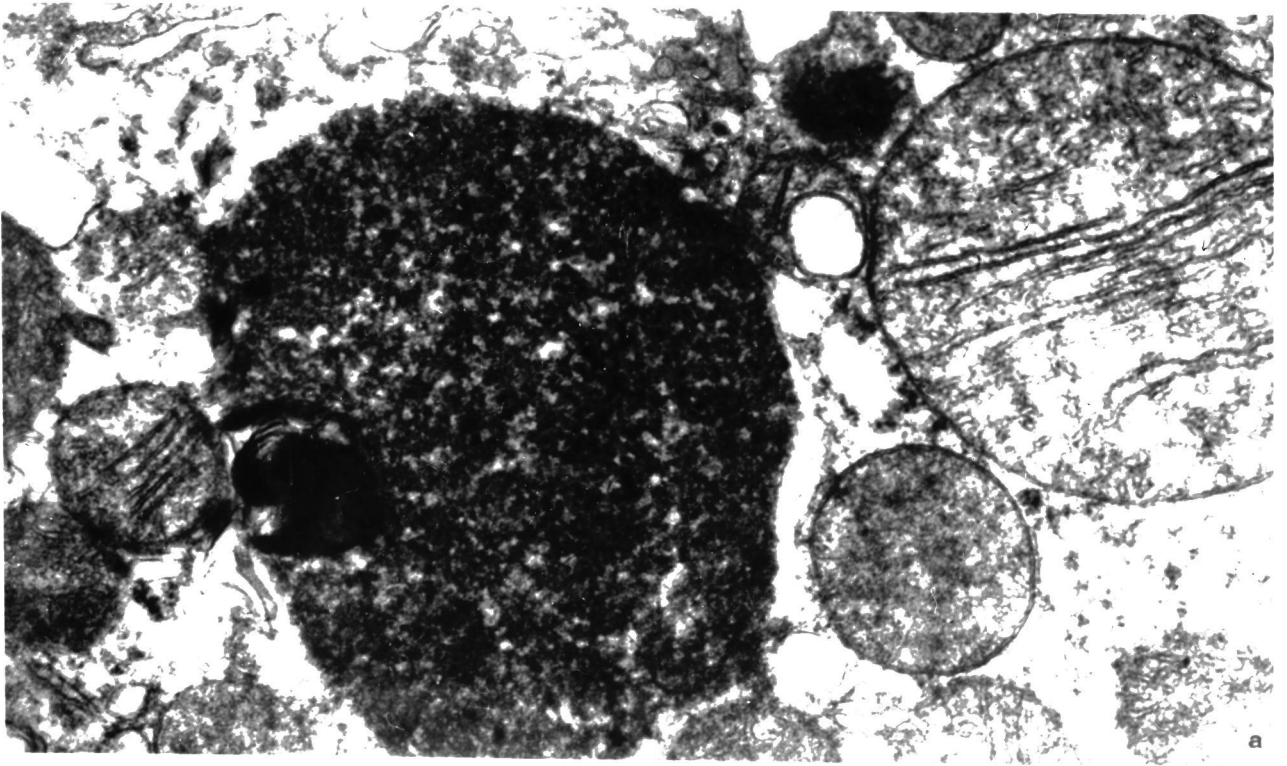
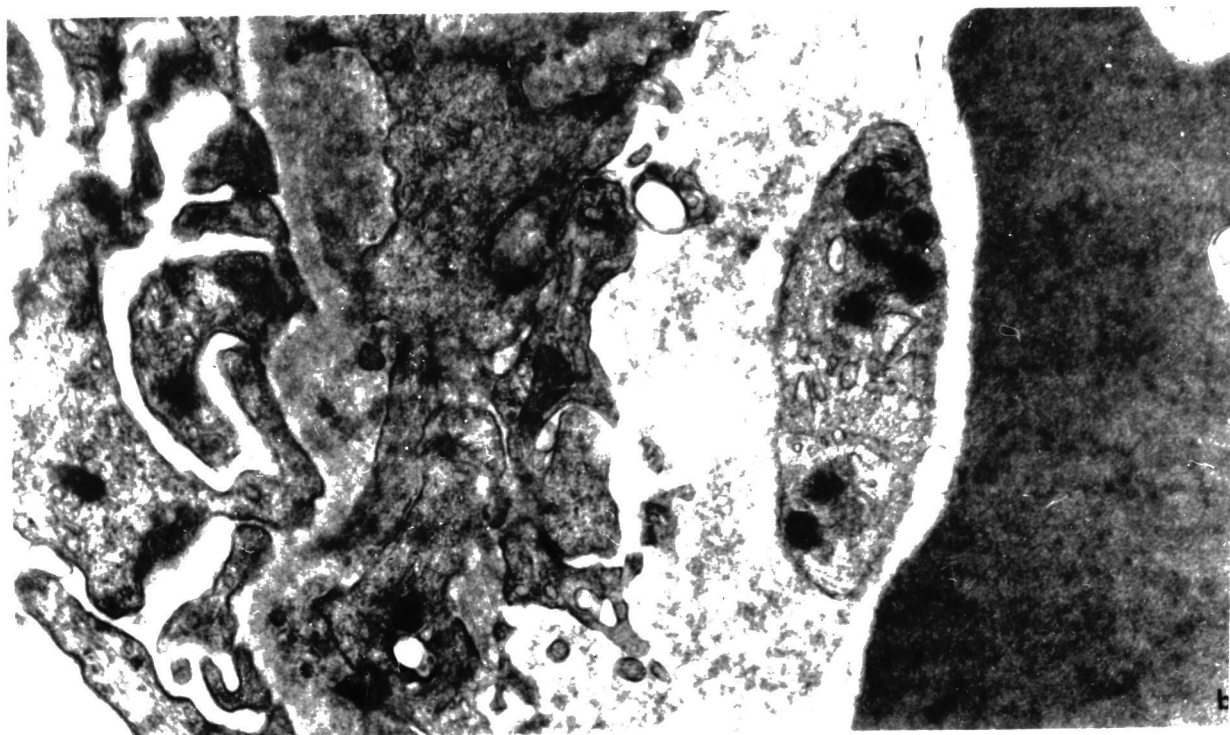


Lámina 27 (a, b)

Alteración endotelial y presencia de plaquetas y hematies en la luz del vaso.





LAMINA 27

Lámina 28 (a, b)

Hiperactividad de los complejos de Golgi en los podocitos. Notese la presencia de vesículas pinocitarias.

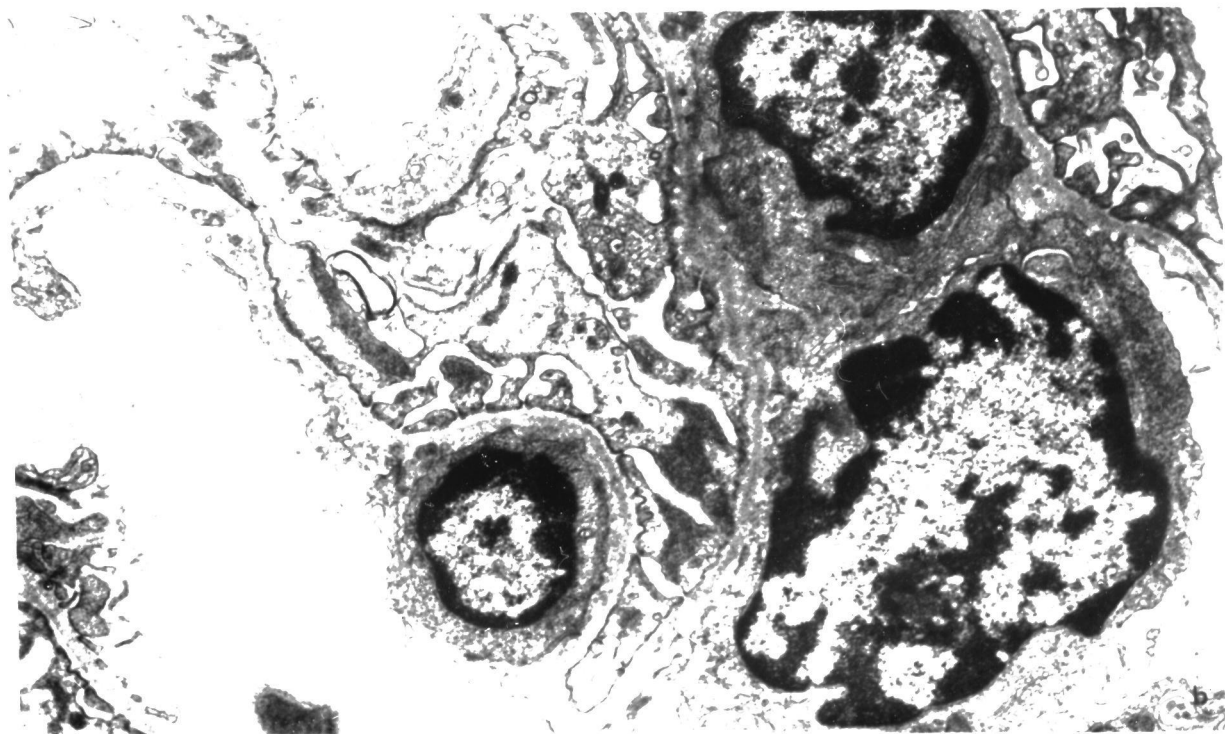
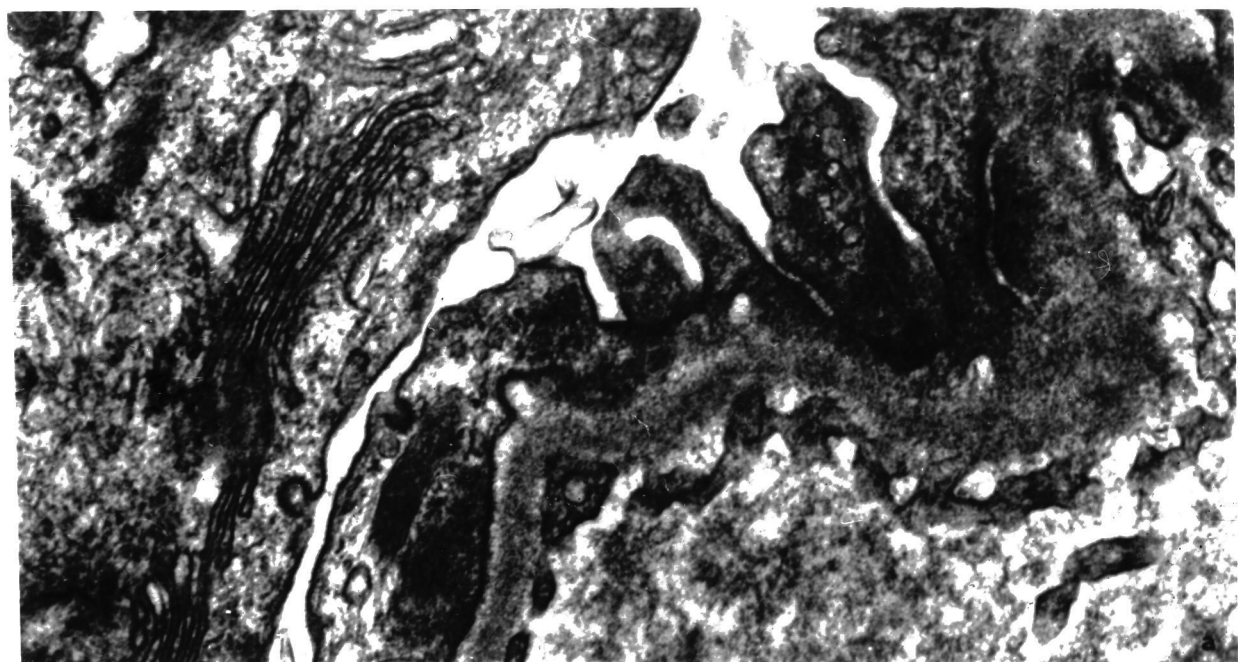


Lámina 29

29-a. - T.C.P.: conservación del ribete en cepillo. Notese la aparición de grandes lisosomas.

29-b. - T.C.P.: fenómenos de necrosis celular.

29-c. - Véase la profunda desorganización en los T.C. que provoca la acción del fármaco.

29-d. - Presencia de cilindros en el T.C.P.

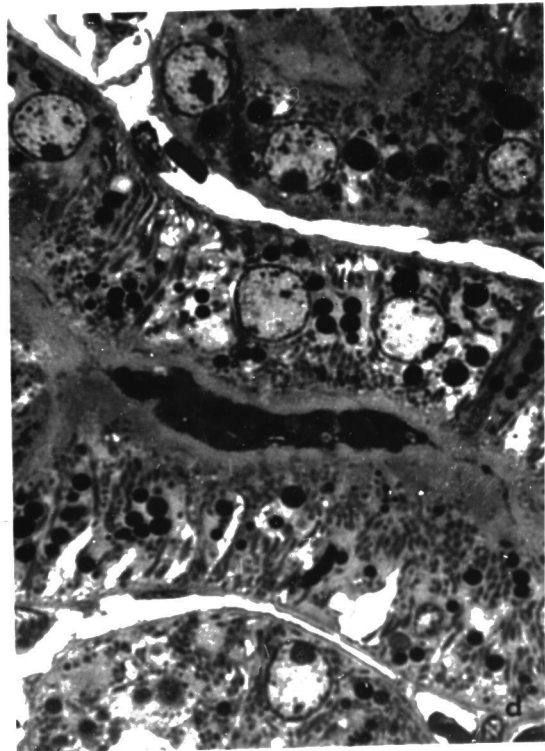
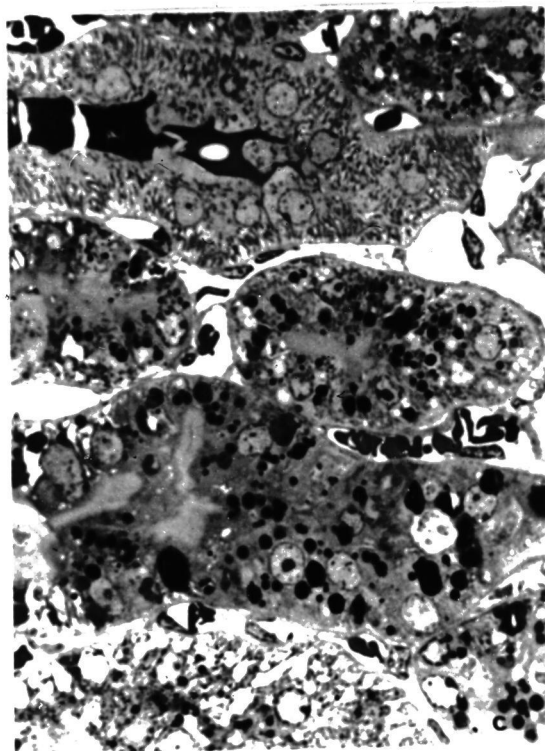
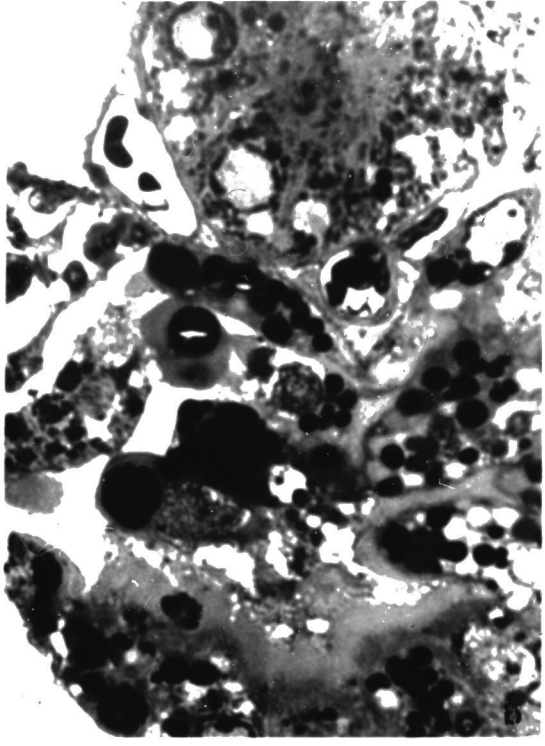
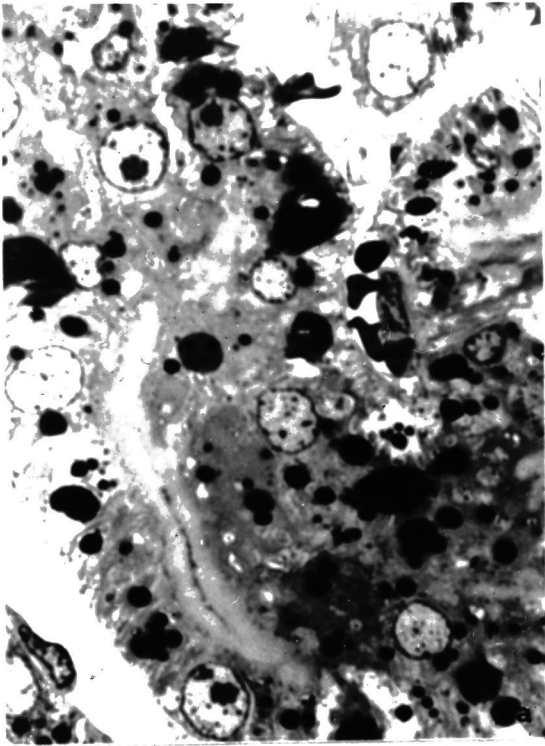
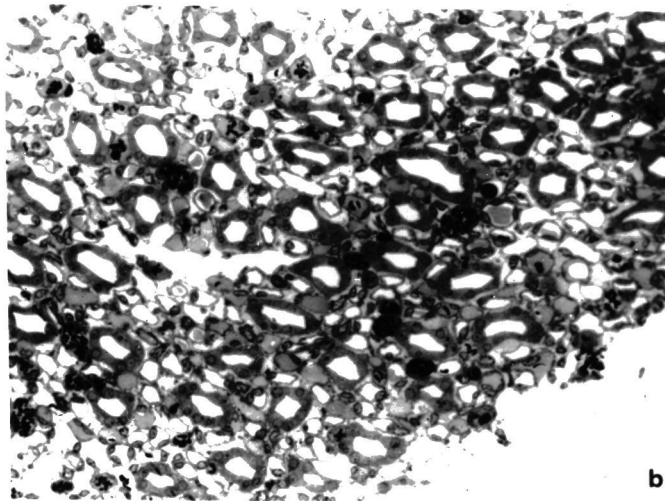
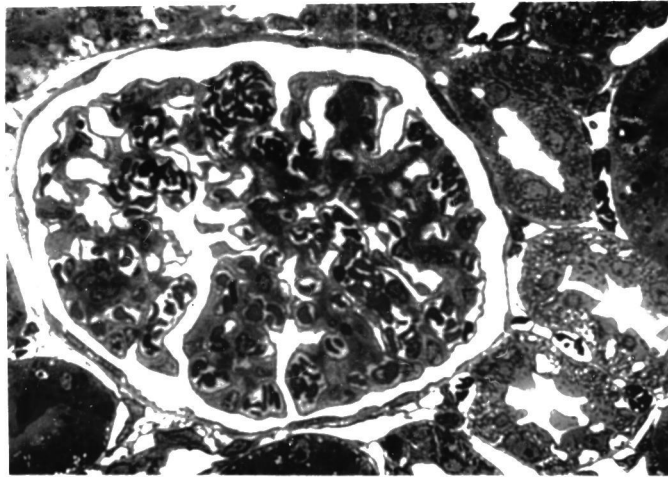


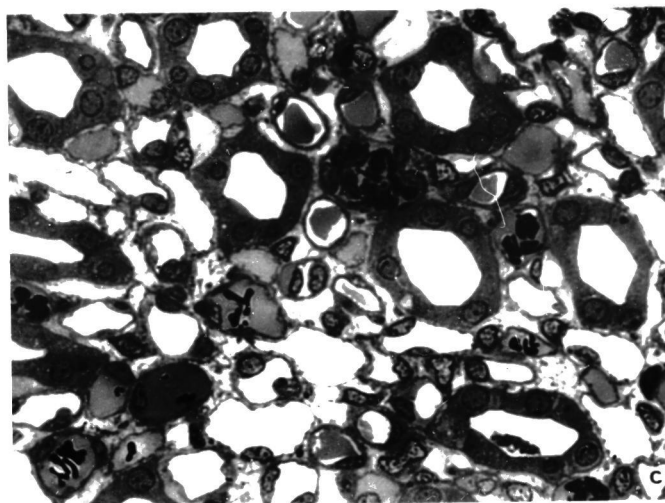
Lámina 30 (a, b, c)

Fenómenos congestivos vasculares tanto a nivel de glomerulo como de médula.





b



c

Lámina 31

31-a.- Vacuola a nivel de la zona basal.

31-b.- Lisosomas con inclusiones mielínicas.



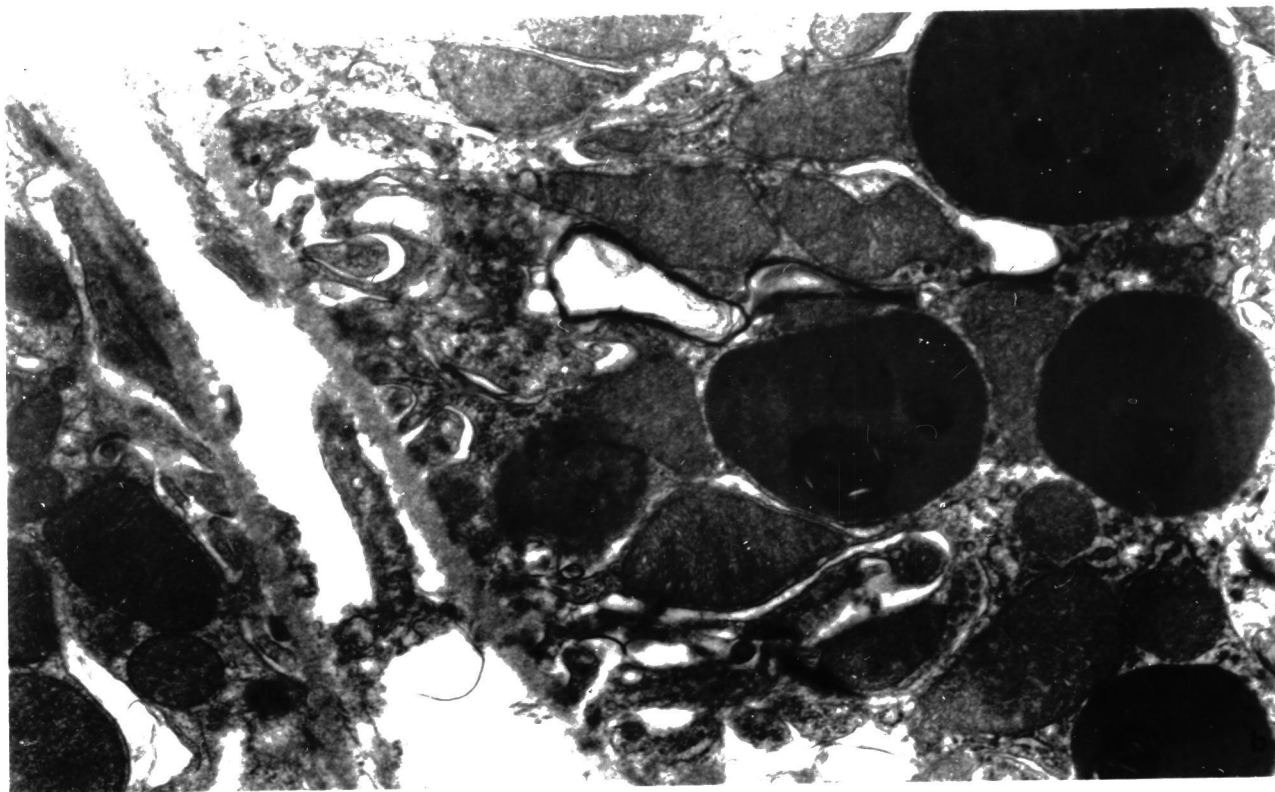
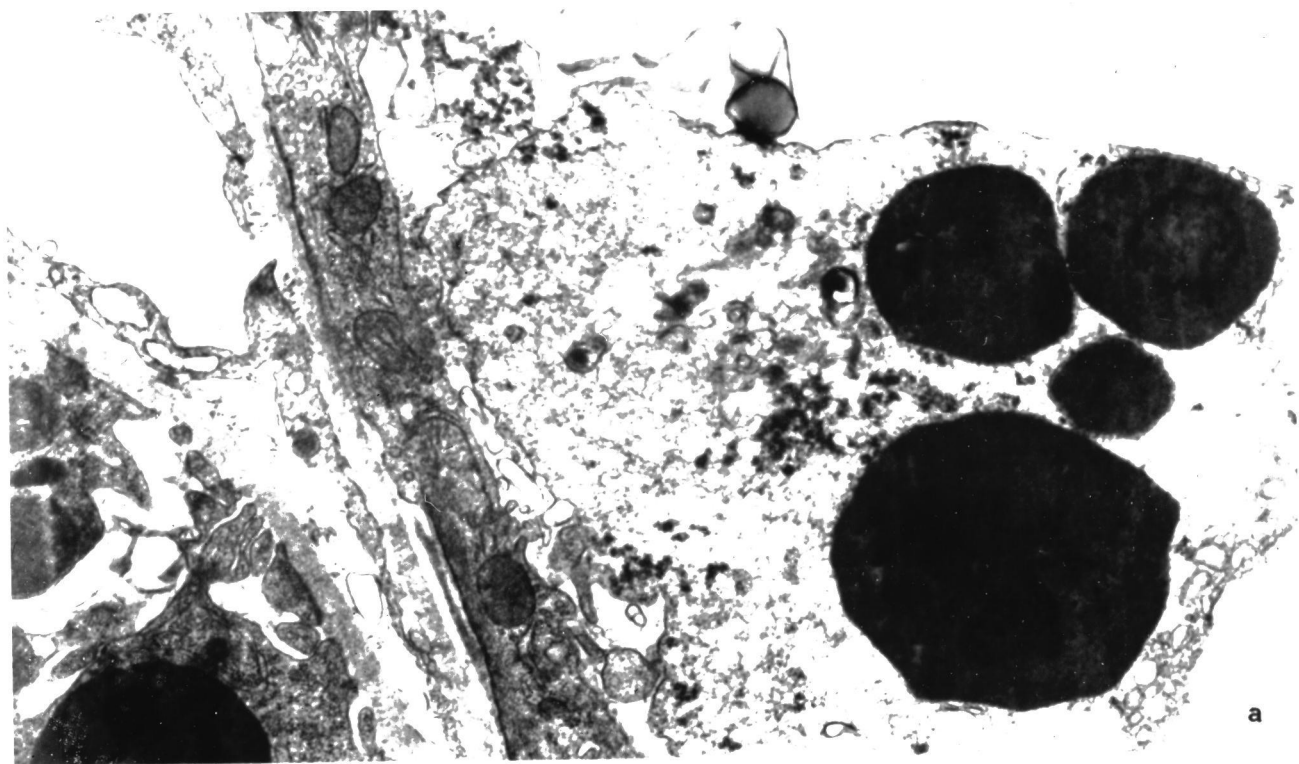


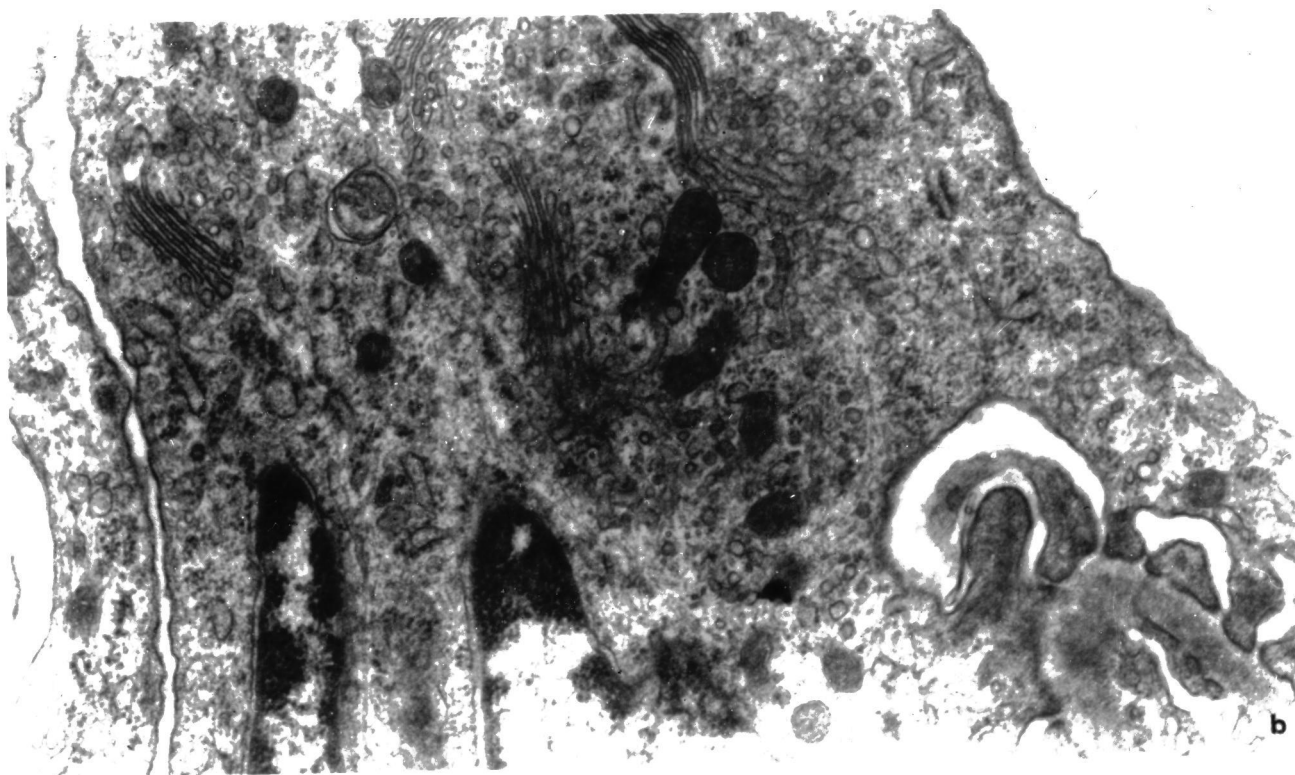
Lámina 32

32-a. - Fragmento celular adherido a la Cápsula de Bowman.

32-b. - Acúmulos dictiosómicos en un podocito.



a



b

## V.- DISCUSSION

La gentamicina pertenece al grupo de los antibióticos - aminoglucósidos, su actividad antibacteriana, "in vitro", así como sus resultados en farmacología clínica, han sido muy estudiados - (KAHLMETER-1978) (82).

HEWITT (1974) (68) ha demostrado que en los últimos - años su capacidad ototóxica ha disminuido y que ahora se encuentra alrededor de un uno al dos por ciento. Por otra parte, la introducción de la tobramicina ha sido beneficiosa para disminuir la ototoxicidad de los antibióticos aminoglucósidos, ya que con su aplicación, según SPEIRS (1976) (171), la ototoxicidad ha disminuido al 1%. Sin embargo, estudios comparativos realizados con ambos antibióticos, han demostrado que la gentamicina tiene mayor capacidad ototóxica que la tobramicina (FEDERSPIL-1973; WELLES-1973) (49, 187).

KAHLMETER (1978) (82) estudiando la acción de la gentamicina y la tobramicina en pacientes con diversas infecciones, ha comparado las diferencias en la concentración en suero y orina. Por otro lado, este mismo autor en diferentes trabajos, ha estudiado tam

bien la acción nefrotóxica de ambos antibióticos (KAHLMETER-1975, 1978) (81, 82). En estos trabajos, se ha visto que la concentración en suero de ambos aminoglucósidos son las mismas aproximadamente, que ya obtuvieran MEYERS (1972) (119) y REGAMEY (1973) (141) y hay que tener en cuenta que la concentración de gentamicina en suero está en relación con el peso corporal y el estado de la función renal, como ya vieran KAYE (1974), BARZA (1975) y SIBER (1975) - (86, 8, 167).

La gentamicina es un antibiótico de amplio espectro, que corresponde a un aminoglicósido aislado de la Micromospora purpúrea (WEINSTEIN-1963) (186), su actividad contra algunas bacterias Gram (-), se ha demostrado superior a otros antibióticos usados comúnmente (KIRBY-1969) (88). Sin embargo, su capacidad nefrotóxica y ototóxica, ha hecho que para su aplicación haya que seleccionar a los pacientes (BOBROW-1972; WILFERT-1971) (14, 196).

La capacidad nefrotóxica en los animales ha sido estudiada con dosis superiores a las utilizadas en el hombre, y las dosis tóxicas que se han encontrado varían con el animal y la especie. La necrosis tubular renal era marcada en aquellos grupos de ratas que habían recibido 160 mgs/kg/día, siendo de menor grado en los que recibieron 40 mgs/kg/día. Lesiones renales más significativas al microscopio óptico aparecieron en aquellos animales que recibieron 20 mgs/kg/día.

KOSEK (1974) (96) ha visto que existen diferencias en el grado de sensibilidad según las dosis y los animales empleados, así,

por ejemplo, estos autores estudiando 344 ratas Fischer, observaron cambios ultraestructurales con dosis de 1 mg/kg/día, y obtienen necrosis tubular con dosis de 40 mgs/kg/día, los últimos días del tratamiento.

BLACK (1964) (13) ha comunicado que en perros a los que se les administró 40 mg/kg/día, durante 15 días, se provocó un 100% de mortalidad, con necrosis tubular manifiesta. Similares resultados se alcanzaron en perros que recibieron 80 mg/kg/día, durante 45 días mientras que aquellos perros que se les dió 5,6 mg/kg/día, durante 50 días, sobrevivieron y no tuvieron lesiones renales significativas. Sin embargo, en monos aparecieron necrosis tubulares claras con 60 mg/kg/día, al séptimo día (IGARASHI-1971) (75). Los conocimientos acerca de los mecanismos básicos celulares, implicados en la acción nefrotóxica de los antibióticos, es variada y ha sido estudiada por varios autores (VERA-ROMAN-1975) (180).

En el caso de la bacitracina y polimixina, sus efectos lesivos estan en relación con la estructura polipeptídica, donde producen lesiones semejantes a las que se originan utilizando la D L-serina (SHORT-1952; WACHSTEIN-1947) (166, 181). Estudios ultraestructurales, han revelado que la bacitracina aumenta el número de citosegregosomas, en las células del T.C.P. (HANSEN-1956) (66). La tetraciclina se ha demostrado, que se acumula de forma específica en las mitocondrias de las células del T.C.P. (DU-BUY-1961) - (40), pero aparentemente no provoca alteración funcional significativa. Sin embargo, los productos de degradación de la tetraciclina interfieren con la fosforilación oxidativa de las mitocondrias, originanu

nando un cuadro clínicamente parecido al síndrome de Fanconi (LINDQUIST-1966) (103).

Aunque ha sido muy estudiado profundamente, poco se conoce acerca del efecto de la gentamicina sobre el riñón. VERA-ROMAN (1975) (180) ha estudiado los mecanismos nefrotóxicos de la misma, los cuales en suma, consisten en una alteración de la síntesis de proteína y un aumento de la liberación de las fosfatasas ácidas - procedentes de los lisosomas. Por otro lado, este mismo autor ha estudiado los cambios ultraestructurales. Así mismo, desde el punto de vista bioquímico, considera que la gentamicina puede interferir la síntesis de proteínas en la corteza renal, pero sin embargo, esta consideración no ha sido bioquímicamente medida. No obstante, podría pensarse que no es medible con datos significativos la alteración de la síntesis proteica, porque la alteración celular en el T.C.P., es de tipo focal, por lo tanto, podría ocurrir que la proporción de células lesionadas, fuera demasiado pequeña para ser medida su acción lesiva o inhibitoria de la síntesis proteica.

HAHN (1969) (62) piensa que los mecanismos de acción de la gentamicina estarían a nivel de los ribosomas. Otro mecanismo de acción lesiva celular, está en relación con la liberación de las fosfatasas ácidas procedentes de los lisosomas, pero sin embargo, hay que pensar que existen otras hidrolasas lisosomales que también pueden ser liberadas.

Los citosegregosomas, son en realidad lisosomas que contienen restos de orgánulos celulares alterados. Se sabe que en -



condiciones fisiológicas y particularmente en aquellos órganos que tienen una gran actividad metabólica, los orgánulos citoplasmáticos son renovados y tienen un rápido "turn over". La presencia de pequeñas cantidades de citosegregosomas o heterofagosomas en el túbulo contorneado proximal de las ratas controles, probablemente refleja el mecanismo de "turn over" de los orgánulos celulares del túbulo - contorneado proximal, y no lesiones celulares.

Sin embargo, en condiciones patológicas o estados metabólicos alterados, el número de citosegregosomas aumenta, lo cual reflejaría de forma directa o indirecta, mecanismos de necrobiosis citoplasmática. Se sabe que la administración de albúmina, hemoglobina, peroxidasas y otras proteínas (ERICSON-1969; KURTZ-1962) (46, 98), dosis subletales de mercurio (TAYLOR-1965) (174), sucrosa por vía parenteral (JANIGAN-1961) (79), administración de bacitracina (HANSEN-1956) (66) y gentamicina (KURTZ-1962) (98), provocan un aumento de los citosegregosomas. Este aumento, se piensa que significa una respuesta compensatoria celular para digerir el antibiótico o también se piensa, que sea una forma de lesión citoplasmática subletal (VERA-ROMAN-1975) (180).

Las alteraciones mitocondriales, están en relación con las alteraciones del retículo endoplásmico, las cuales aparecieron a las dosis máximas de 160 mg/kg/día, y VERA-ROMAN (1975) (180) piensa, que las alteraciones son secundarias a la acción del antibiótico y que estos cambios quizás representan una alteración de la permeabilidad hidroelectrolítica de las membranas, tanto del plasmalema como del retículo endoplásmico, lo cual origina una dilatación de

dicho retículo.

Un cierto número de mitocondrias, se mostraban dilatadas, e incluso rotas mientras que otras mostraban su tamaño normal y lo único que destacaba, era un aumento de la densidad de la matriz mitocondrial. Se ha estudiado la secuencia de estos cambios mitocondriales en las células epiteliales de la vejiga del sapo tratado con anfoterisina B, y se ha llegado a la conclusión de que ciertas dilataciones del retículo endoplásmico y contracciones y condensaciones de la matriz mitocondrial, durante periodos limitados de tiempo, son compatibles con una actividad celular normal. Se pone en relación la densidad de la matriz mitocondrial con la elevación de la proporción de ATP y ADP dentro de la célula. Se comprende fácilmente, que el ATP debe ser rapidamente consumido para mantener un nivel metabólico celular normal.

Estudiando LEHNINGER (1962) (100) "in vitro" mitocondrias, ha descrito dos tipos de hinchamiento mitocondrial, uno es de tipo pasivo y se debe a cambios de osmolaridad, y otro es de tipo activo, y está originado por las modificaciones en el contenido de calcio, ión fosfato, o por la acción de la tiroxina, glutatión y hormonas que tengan iones disulfitos. Por lo tanto se piensa, que los cambios mitocondriales representan una respuesta a mecanismos alternativos de la vida celular.

VERA-ROMAN (1975) (180) sugiere que la gentamicina causa un efecto nocivo sobre las células del T.C.P. a una determinada concentración, y piensa, que no se puede establecer que a peque-

ñas dosis, la droga pueda interferir la función del túbulo contorneado proximal, sin embargo esto parece morfológicamente demostrativo por alteraciones de determinados orgánulos celulares, que están en función de la dosis utilizada.

La intensa dilatación del retículo endoplásmico, podría sugerir que existe una temprana alteración de la distribución del agua y del transporte de electrolitos dentro de la célula. Estos cambios son reversibles y por consiguiente, no ejercen acción lesiva - irreparable (VERA-ROMAN-1975) (180).

La gentamicina es un eficaz antibiótico cuya capacidad nefrotóxica potencial está demostrada; sin embargo, utilizando diferentes animales testigos, se ha sugerido que grandes dosis de gentamicina, puede no causar lesión en el parénquima renal de ratas normales. FALCO (1969) (48) ha comunicado que es preciso, de doce a sesenta veces, la dosis terapéutica humana para producir acción nefrotóxica en rata. En patología humana se sabe que este antibiótico provoca alteraciones renales en un dos por ciento o menos de pacientes tratados (BLACK-1964) (13).

ERICSON (1969) (46) ha demostrado un aumento de lisosomas, 48 horas después de la primera dosis de gentamicina dada a un miligramo por kilogramo de peso. Estos citoagregosomas, se caracterizan por una gran actividad de fosfatasas ácidas y presencia de grandes cuerpos mieloides, que alcanzaban un tamaño de 2,5  $\mu$  de diámetro, la mayoría de estos cuerpos, según KOSEK (1974) (96), aparecían en todas las ratas tratadas y estaban compuestos por una

masa densa de membrana, con un espesor de 30 Å y en ocasiones aparecían también cuerpos redondeados u ovoides compuestos por densos filamentos. El aparato de Golgi estaba hipertrófico y gran cantidad de ribosomas libres estaban aumentando en las células lesionadas, aunque generalmente, las mitocondrias se mostraban normales. Gotas lipídicas, no unidas a lisosomas, aparecían más frecuentemente que en los riñones controles. En el túbulo contorneado distal mostraba, a veces, un aumento de fosfatasa ácida y figuras de mielina. El microscopio óptico demostraba solamente un aumento de la actividad fosfatasa ácida.

Estudiando KOSEK (1974) (96) animales a los que se les suministró gentamicina, demostró un aumento de la actividad fosfatasa ácida y que las lesiones aparecían en mayor cantidad en el túbulo contorneado proximal que en el distal. Algunas veces, lisosomas y cuerpos mieloides aparecían en las células del epitelio glomerular, y ocasionalmente, porciones celulares con cuerpos mieloides obstruían la luz tubular.

Cuerpos mielínicos semejantes a aquellos que se producen por acción de la gentamicina, han sido observado por otros investigadores. Así por ejemplo, GRAY (1971) (60) ha demostrado estos cuerpos mielínicos en hígado y riñón de ratas y perros, tras la administración de eritromicina y clindamicina. Cuando las dosis de la droga utilizada eran bajas, estos autores han demostrado una fase compensatoria con menor cantidad de cuerpos mieloides. KOSEK (1974) (96) no es capaz de explicar de forma concluyente, la participación de cuerpos mieloides en los mecanismos de lesión celular.

HRUBAN (1963) (74) ha estudiado los cuerpos mieloides, usando - otras sustancias como chloriclicina, triparano y cloroquina, y este autor piensa que estos cuerpos mieloides dentro de los lisosomas in dican un retraso de la digestion o degradacion del material membranoso. Los cuerpos membranosos intralisosomales que aparecen en la enfermedad de Tay-Sachs, son morfológicamente iguales a los - que se observan tras el tratamiento con gentamicina (STERN-1972; TERRY-1971) (173, 175). En esta enfermedad, se piensa que los pro ductos de la digestion lisosomal, se acumulan como consecuencia de un fallo en la degradacion enzimática, como resultado de la deficiencia de hexosaminidasa-A (O'BRIEN-1971) (129).

La nefrotoxicidad es el más importante factor que límita el uso y la dosis de los antibióticos aminoglucósidos. En lo que se re fiere a la gentamicina, BENDUSH (1976) (10) ha comunicado, que existe una disminucion significativa de la filtracion glomerular durante el tratamiento, que puede alcanzar el 4,5% de los pacientes o, según DAHLGREN (1975) (31) el 4,8%, o también según SETIA (1976) (163) el 17% de los pacientes. Se considera que la nefrotoxicidad - aumenta en los animales cuando se utilizan grandes dosis (WALHIG-1973; WELLES-1973) (182, 187) y que dicha accion está en relacion con una mayor concentracion del antibiótico en el suero (VALDIVIE-SO-1975) (178).

En gran cantidad de trabajos, las dosis de aminoglicósi-dos utilizadas se administran con intervalos de ocho horas, así que grandes dosis pueden causar un incremento tanto en los puntos máxi-mos como mínimos de concentracion en sangre, por ello, ha habido

confusión, acerca de la relación que existe entre la toxicidad del -aminoglucósido y la dosis empleada. Así por ejemplo, GINGELL- (1968), KUNIN (1967); McHENRY (1971); SAWCHUCK (1976) y VALDIVIESO (1975) (56, 97, 115, 156, 178) sugieren el uso de la misma dosis con intervalos más largos, otros como BENNER (1974); -- CHANG (1975); KNIGHT (1970) (11, 27, 94) recomiendan pequeñas dosis con un mismo intervalo, y otros sugieren relacionar las dosis empleadas de tal manera que cuanto mayor sea ésta, mayor intervalo separe una aplicación de otra, como SCHUMACHER (1975); MAWER (1974-75); GIUSTI (1973); CUTLER (1972); SAWCHUCK (1976) y DETTLI (1974) (161, 113, 114, 57, 25, 156, 36).

Los estudios clínicos sobre la toxicidad, están complicados por el hecho de que la mayor nefrotoxicidad aparece en pacientes en los que había una insuficiencia renal persistente (KLEEMAN-1960) (90) bien que de forma intercurrente apareciese una lesión renal (FRAME-1973; HEWITT-1974) (53, 68), o bien el uso combinado de algunos aminoglucósidos con otras sustancias nefrotóxicas, especialmente del grupo de la cefalosporinas (NOONE-1954-73; HOFFMAN-1977; WESTERNFELDER-1974; SMITH-1972; KLEINKNECHT-1973; HANSTEN-1973; WILHELM-1975) (127, 128, 69, 195, 170, 93, 67, 197).

Por otro lado, estudios clínicos sobre la nefrotoxicidad de los aminoglucosidos están también influidos por otros factores - que no son de carácter farmacológicos, como es la edad (WILFERT- (1971) (196), la anemia (FALCO-1969) (48), pacientes con hipoprotei-nemia (HOFFMAN-1977; LABOWITZ-1974) (69, 99), y pacientes a

los que se había suministrado anteriormente, dosis repetidas de otro aminoglucósido (VALDIVIESO-1975) (178).

Por otra parte, se ha pensado que las alteraciones circulatorias (DE DUVE-1959) (32) en riñones podrían provocar una hiperactividad de los lisosomas, lo cual nosotros hemos podido ver, que tanto los animales afectos de nefrectomía, como aquellos que estaban sometidos a tratamiento con gentamicina sin intervención quirúrgica previa, mostraban una acusada congestión vascular, tanto en la médula como en la cortical, que sería muy manifiesto a nivel del glomérulo. Estos fenómenos congestivos, que confirmamos desde el punto de vista ultraestructural, son debidos a fenómenos compensatorios, para regular la excreción y mantener la homeostasis. Este dato, también lo tenemos en cuenta para explicar la aparición de estos grandes lisosomas.

Por otra parte, se ha pensado que los elementos mesangiales, son los primeros que se van a alterar en los mecanismos de patología glomerular, y que en general, como considera DIAZ-FLORES (1974) (37), pueden aumentar su número, incorporar cuerpos extraños y formar sustancias que son vertidas hacia la membrana basal

Como consecuencia de que en estos fenómenos las membranas basales aparecen alteradas, ponemos en relación este aumento de elementos mesangiales con el hecho que se ponen en marcha en los primeros días de la experiencia, que se ha considerado (DIAZ-FLORES-1974) (37) que estas células intervienen en la renovación de la propia membrana basal del glomérulo, membrana basal que como

auténtica membrana dializante del riñón, tiene que estar perfectamente formada para que el funcionamiento renal se mantenga.

Un aspecto muy típico que también hemos comprobado, es que la hiperactividad lisosomal está perfectamente demostrada - tanto en el tubo contorneado proximal como en zonas limitadas de la médula renal, lo cual ponemos en relación con su función, ya que es el tubo contorneado proximal donde los mecanismos de reabsorción se realiza en su mayor parte.

Se ha pensado (AITHAL-1977) (2), que el aumento de enzimas en los lisosomas, en los déficit de Potasio, nos indica que se han puesto en marcha fenómenos de síntesis proteica "de novo", y nosotros hemos visto como, en especial, en los tubos contorneados proximales, existe a las pocas horas de la experiencia, un gran -- aumento de ribosomas libres, e incluso asociados a aquellas formaciones de Retículo endoplásmico de las porciones basales de las células, que han perdido su típica ordenación en relación con las mitocondrias. Sin embargo, realmente el mecanismo por el cual el déficit de Potasio induce la formación de lisosomas en la célula, no está totalmente aclarado.

Es lógico que exista un aumento en la eliminación de sodio ya que, como es sabido, el metabolismo del agua va a ser paralelo al metabolismo del sodio.

Diferentes grados de eliminación de sustancias y en especial las pequeñas hematurias, la hemos comprobado en los primeros



días, debido a la enorme vasodilatación e incluso hemos visto, hemacias dentro de la propia luz del túbulo.

Un aspecto muy importante, desde el punto de vista morfológico, es la presencia de las dilataciones del Retículo Endoplásmico y las alteraciones de los pliegues basales a nivel del tubo contorneado proximal y por otra parte, el aumento de los sistemas de Golgi que aparecen todos intensamente dilatados y que ya, desde el punto de vista ultraestructural, nos va a mostrar que estos sistemas, en estas condiciones experimentales, están en hiperactividad.

Como todos sabemos, (DIAZ-FLORES-1977) (38) una de las funciones del sistema de Golgi está asociada a la producción de elementos lisosomales que, a lo largo de nuestra experiencia, hemos visto como estos comenzaban a aparecer a las pocas horas de la intervención, en todos los animales, y de forma especial a nivel de los podocitos glomerulares.

Los cambios histológicos por acción de la gentamicina, de mayor entidad, aparecen en el tubo contorneado proximal, con presencia de segregosomas, citosegregosomas, cuerpos mielínicos con membranas de 30 Å de espesor, sobre todo en las ratas a las que se les había aplicado dosis moderadas. Los cuerpos mielínicos son similares a los que aparecen en la digestión lisosomal de fosfolípidos y ellos pueden representar un retraso en la degradación del material membranoso. Similares cuerpos mielínicos, se han observado en las células del tubo contorneado proximal de pacientes tratados con gentamicina (KOSEK-1974) (96).

Otras evidencias de alteraciones lisosomales son la aparición de enzimas lisosomales en la orina dentro de los tres días del comienzo de una terapia con aminoglucósido (RONALD-1971; WELLWOOD-1975) (151, 188). Los aminoglucósidos se acumulan en gran concentración en los riñones de los animales de experimentación - (GILBERT-1979; LUFT-1974; WAHLIG-1973; WHELTON-1979) (55, 105, 182, 185) y también en el riñón de pacientes (ALFTHAN-1973; BERNARD-1973; EDWARDS-1976; KLEIN-1971; SCHENTAG-1976; WHELTON-1979) (3, 12, 43, 158, 185).

La acción tóxica renal de la gentamicina se ha comunicado, pero los casos de pura toxicidad de la misma son relativamente infrecuentes (ABRAMOWICZ-1968; JACKSON-1967) (1, 77) aunque la valoración clínica de incidencias de toxicidad a veces no está clara, ya que si se aplica, por ejemplo, en procesos graves de sepsis tenemos que conjugar dos grandes parámetros. Por un lado, la propia acción tóxica y lesiva del proceso tóxico del antibiótico, y por otro lado, la acción también tóxica y lesiva del proceso séptico (FALCO-1969; MILMAN-1974; WILFERT-1971) (48, 121, 196).

La generalización de la acción tóxica de diferentes aminoglucósidos basada en estudios hechos en animales experimentales, es difícil de valorar, ya que la toxicidad es diferente según la especie utilizada (BLACK-1964; FALCO-1969; MILMAN-1974) (13, 48, 121). Por ejemplo, se ha visto que en algunas especies de ratas la administración de gentamicina en cantidades superiores a las usadas en terapéutica humana, provoca enfermedad renal, incluso HOUGHTON (1976) (72) lo ha demostrado recientemente con microscopía electró-

nica lesiones en el tubo contorneado proximal en ratas Fischer a las que se les dió gentamicina en dosis semejantes a las usadas en la clínica humana, provocó profundas lesiones epiteliales en los túbulos. Había estados intermedios en las lesiones epiteliales que oscilaban desde el simple hinchamiento mitocondrial, hasta la destrucción citoplásmica, pasando por grados en los que los pliegues de la membrana basal desaparecen y aparecen alteraciones en los microvillis.

Muchos túbulos, tanto proximales como distales, estaban repletos de material granuloso brillante, eosinófilo, el cual la microscopía electrónica demostró que consistía en restos citoplásmicos con gran cantidad de cuerpos mielínicos. En algunos túbulos, las células epiteliales se han descamado, y encontramos su luz sin revestimiento y solamente cubierta por la membrana basal.

Bajo microscopía electrónica, HOUGHTON (1976) (72) ha visto que existen dos tipos de células no totalmente lesionadas, - una de ellas corresponde a células que tienen los microvillis conservados y una densa matriz citoplasmática. Estas células tienen mitocondrias pequeñas, redondeadas o cilíndricas y suelen presentar, algunas veces, retículo endoplásmico liso prominente y algunos lisosomas grandes que contienen cuerpos mielínicos. Los pliegues basales no existen y hay relativamente pocas vesículas apicales.

El segundo tipo de células, corresponde a elementos celulares en regeneración, son mucho menos diferenciadas, más grande y presentan gran cantidad de ribosomas; lisosomas que algunos - casos contienen cuerpos mielínicos. Aparecen microvillis rudimental

rios y en muchas ocasiones fundidos formando agrupaciones. Los pliegues basales y vesículas apicales no existen.

Muchos autores, le han dado mucha importancia a la conservación de la membrana basal para que se completen los mecanismos de regeneración de la nefrona y concluyen que la enfermedad tubular intersticial persiste después de la necrosis tubular, como resultado de lesión severa de ruptura en la membrana basal en modelos experimentales y clínicos (CUPPAGE-1977; JACKSON-1967; -- OLIVER-1915; ORMOS-1973; SIEGEL-1975) (24, 77, 131, 133, 168).

HOUGHTON (1976) (72) ha encontrado en su experiencia que la membrana basal aparecía más alterada y engrosada en aquellos túbulos en donde la degeneración epitelial era incompleta. Por otro lado, el mecanismo básico por el cual la gentamicina provoca necrosis en el tubo contorneado proximal no es bien conocido. Los mecanismos íntimos del transporte de la droga en el tubo contorneado proximal no ha sido estudiado, que nosotros sepamos. Según -- HOUGHTON (1976) (72) la diferente acción necrótica sobre las diversas zonas del túbulo, sugiere una distinta susceptibilidad según la zona del túbulo estudiada.

La significación patológica del aumento de grandes lisosomas y citosegregosomas en las células del túbulo contorneado proximal, después de la administración de gentamicina, y su relación con el efecto citotóxico de la droga, son puramente especulativos. Estas estructuras lisosomales son probablemente vacuolas autofágicas resultantes del secuestro de fragmentos citoplasmáticos y de la diges-

ción, por enzimas lisosómicos, de membranas y orgánulos (ERICSON-1969) (46). Se considera, que este fenómeno ocurre como mecanismo normal del metabolismo en células normales, y de forma especial en las células del tubo contorneado proximal de las ratas.

El origen y significación de los cuerpos mielínicos no es bien conocido, se creen que estos pueden aparecer en la experimentación animal por el uso de determinadas drogas o fármacos (GRAY-1971) (60). Se ha visto que la formación de figuras mielínicas o figuras membranosas de forma espontánea, cuando ciertos lípidos, y de forma especial los fosfolípidos, se ponen en contacto con el agua (BANGHAM-1963; REVEL-1958) (7, 142). Los cuerpos mielínicos - pueden aparecer cuando las sustancias lípidicas que constituyen los lisosomas, se alteran e hidratan, y entonces forman agregados membranosos (KOSEK-1974) (96).

HRUBAN (1963) (74) ha propuesto, que los cuerpos mielínicos aparecen como resultado de un incompleto mecanismo de degradación de las membranas de los retículos endoplásmicos en las vacuolas autofágicas, y que un prolongado estado de degradación, puede ocurrir cuando la membrana citoplasmática está fuertemente unida al fármaco, o cuando hay una inhibición en la formación o función de las vacuolas autofágicas, lo cual se puede originar, por ejemplo, por una inadecuada síntesis de enzimas lisosómicos, o una inadecuada fusión de lisosomas primarios con vacuolas autofágicas. Otros - autores han observado que los cuerpos mielínicos aparecen cuando la síntesis de proteínas y lípidos está alterada.

A los catorce días de la experiencia, la alteración del epitelio del tubo contorneado proximal era total y aparecían túbulo repletos de restos celulares y existían claros signos de regeneración. Aparecían células epiteliales basófilas sin ribete en cepillo, más altas, donde encontrábamos numerosas figuras mitóticas. Aparecen áreas microfocales de necrosis en la porción recta del tubo contorneado proximal y distal. Acúmulos de linfocitos aparecen distribuidos difusamente, tanto en el intersticio de la cortical como en las zonas corticomedulares.

La microscopía electrónica demostró cambios celulares que antes hemos descrito. La mayoría de los túbulo estaban recubiertos por células de epitelio regenerado y mostraban un moderado desarrollo de los microvillis, apareciendo rudimentarios pliegues basales.

La gentamicina provoca necrosis tubular en los animales de experimentación (KOSEK-1974) (96). HOUGHTON (1976) (72) ha demostrado que la destrucción del tubo contorneado proximal es progresiva, hasta alcanzar un completo desarrollo a los catorce días. Las células epiteliales del tubo contorneado proximal son más sensibles a los mecanismos lesivos que cualquier otra zona renal. Este autor ha visto en ratas, que después del tratamiento con gentamicina mostraban una intensa azotemia y aparecían mecanismos de regeneración del tubo contorneado proximal a los diez días del tratamiento. A las tres semanas, la regeneración del epitelio era total, pero los niveles de creatinina continuaban siendo bajos.

Los estudios de este autor son homologables a los que CUPPAGE (1977) y KEMPEZINSKI (1968) (24, 87) han realizado sobre la regeneración de dicho tubo. El curso de los mecanismos regenerativo de las células tubulares es muy interesante, según este autor, la regeneración de las células probablemente comienza a partir de células residuales dentro de las áreas de necrosis tubular. Estas células residuales son vecinas a las zonas del tubo contorneado alterado. Se encuentran mitosis a nivel de la corteza, de distribución irregular. Este aspecto descrito por HOUGHTON (1976) (72) de elementos residuales, también ha sido sugerido por CUPPAGE (1967-72) OLIVER (1915-53) y SIEGEL (1975) (22, 23, 131, 132, 168).

Este autor ha visto que a los 31 días de la suspensión del tratamiento con gentamicina, el nivel de creatinina todavía no es normal y esto lo relaciona con lesiones microscópicas residuales, consistentes en fibrosis intersticial y atrofia tubular.

Nuestros estudios han demostrado, como existen intensas lesiones tubulares en el riñón, y de forma especial en los túbulos contorneados proximales y distales. Lesiones que, aunque son más intensas en animales sometidos a nefrectomía unilateral previa, sin embargo también aparecen en aquellos otros que habían recibido mínimas dosis durante un gran número de días.

Estos cambios estructurales, aparecen con dosis muy superiores a las utilizadas habitualmente en la práctica médica, cosa que sin embargo, no deja de demostrar la nefrotoxocidad de los aminoglucósidos sobre los túbulos contorneados proximales y dista-

les e incluso sobre el propio glomérulo.

Un aspecto especial es la alteración lisosómica, reacción lisosomal que se considera como una lesión subletal que aparece en múltiples cuadros, tanto en la patología humana como animal (ERICSON-1969) (46).

Otro dato llamativo es el aumento de dictiosomas y el gran desarrollo, en general, de los sistemas de Golgi, de forma especial a nivel de los podocitos. Esto, junto con el aumento de elementos ribosómicos libres, lo interpretamos como un posible mecanismo reactivo compensatorio.

A dosis máximas, las lesiones renales acaban provocando una profunda alteración de la función tubular por mecanismos necróticos.

Otro aspecto observado por nosotros en casi todos los animales de nuestra experiencia, es la aparición de gran cantidad de citosegregosomas, estructuras que aparecían no solamente en aquellos animales sometidos a dosis máximas de gentamicina, sino también en aquellos otros que habían sido tratados con dosis mínimas. Esta presencia de citosegregosomas con cuerpos mieloides en su interior, no solamente nos va a indicar una acción lesiva intracelular por acción de los productos que aparecen dentro de los lisosomas, sino que los interpretamos como residuos de una digestión lisosomal no completa.



Estos cuerpos mielínicos que se observan dentro de los citosegregosomas, hay que distinguirlos de aquellas otras formaciones mielínicas que aparecen como artefactos en las mitocondrias debido a pobre fijación o, como considera BEAVER (1965) (9) a una mala fijación por glutaraldehído.

Estos cuerpos mielínicos que aparecen bajo la administración de gentamicina y antes observado por otros autores (GRAY-1971) (60), en el hígado y riñón de ratas y perros, tras la administración de otros tipos de antibióticos, siempre, como en nuestro caso, es de carácter intralisosomal.

Nosotros creemos, que la presencia de estos grandes lisosomas y cuerpos mielínicos, se puede poner en relación con dos cuestiones. Por un lado, con mecanismos de aumento de la eliminación de potasio que, como todos sabemos, provoca un aumento de la actividad lisosomal, pero por otro lado podemos pensar también, que la gentamicina podría alterar los sistemas enzimáticos degradativos en los lisosomas, y esta sería la causa de la aparición de dichos cuerpos mielínicos.

Aunque la gentamicina provoca diversas alteraciones celulares, sus mecanismos lesivos directos, muchas veces, no son perfectamente comprendidos. Lo que si se sabe, debido a estudios hechos en bacterias por HAHN (1969) (62) es que la gentamicina es un inhibidor específico de la síntesis proteica.

## VI. - CONCLUSIONES

- 1.- La disminución de peso en los animales, no es significativa ni en relación con la nefrectomia unilateral, ni con la dosis de fármaco utilizada.
- 2.- Consideramos que los cambios de proteínas en sangre no están en función del fármaco, sino que son consecuencia de shock quirurgico.
- 3.- Existe una tendencia a elevarse la diuresis en los animales tratados con Gentamicina, llegando a ser estadísticamente significativo a las 72 horas de la experiencia.
- 4.- Encontramos un aumento en la excreción de cloruros, estadísticamente significativo, en los animales tratados con Gentamicina.

- 5.- Hay un aumento significativo de proteínas en orina, tras la administración del fármaco. Creemos que ello es un efecto tóxico de la Gentamicina, ejerciendo su acción yatrogénica en los primeros días de su aplicación.
- 6.- La eliminación de proteína por la orina, es mayor en los animales nefrectomizados y con tratamiento de Gentamicina, que en aquellos que no sufrieron nefrectomía.
- 7.- Se observa un aumento en la excreción de sodio, estadísticamente significativo, en las ratas tratadas con Gentamicina.
- 8.- Existe una mayor eliminación de potasio en los animales sometidos a nefrectomía, que la ponemos en relación no solo con la intervención quirúrgica, sino además con la administración del fármaco.
- 9.- El aumento de bilirrubina, tanto en los animales nefrectomizados como en los no nefrectomizados, lo pondríamos en relación con la acción tóxica de la Gentamicina en el hígado.
- 10.- Bajo la acción de la Gentamicina, aparecen lesiones glomerulares que son más manifiestas en los animales nefrectomizados.
- 11.- En los animales nefrectomizados y sometidos a máximas dosis de Gentamicina, encontramos rotura del endotelio vascular glo-

merular y elementos hemáticos junto con restos podocíticos en el espacio capsular.

- 12.- En los animales nefrectomizados encontramos una hiperactividad de los elementos podocíticos y un mayor desarrollo de los sistemas de Golgi, que relacionamos con una reacción de los podocitos y de los elementos mesangiales para conservar la membrana basal.
- 13.- Bajo la acción de la Gentamicina, y en animales nefrectomizados, aparecen microtrombos glomerulares.
- 14.- La acción tóxica de la Gentamicina, además del glomérulo, afecta al tubo contorneado proximal.
- 15.- En los tubos contorneados proximales, existe una hiperactividad lisosomal con parcial conservación del ribete en cepillo.
- 16.- Existe una alteración de los pliegues basales celulares, que pierden su típica relación pliegue basal-mitocondria.
- 17.- La presencia de citosegregosomas y segregosomas, la consideramos como respuesta del tubo contorneado proximal a la acción tóxica del fármaco.

## VII.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- ABRAMOWICZ, M. y EDELMANN, C.M. Jr. (1968). Nephrotoxicity of anti-infective drugs. Clin. Pediat. 7:389.
- 2.- AITHAL, H.N.; TOBACK, F.; SYAMALIMA DUBE GETZ, G.S. y SPARGO, B.H. (1977). Formation of renal-medullary lysosomes during potassium depletion nephropathy. Lab. Inv. 36:107.
- 3.- ALFTHAN, O.; RENKONEN, O.V. y SIVONEN, A. (1973). Concentration of gentamicin of serum, urine and urogenital tissue in man. Act. Pat. S.B. 81:92.
- 4.- ARATAKI, M. (1926). Experimental researdres on the compensatory enlargement of the surviving kidney after unilateral nephrectomy (albino rat). Anat. Rec. 36:437.
- 5.- BACIOCCO, E.A. y ILES, R.L. (1971). Ampicillin and kanamycin concentrations in joint fluid. Clin. Pharm. 12:858.
- 6.- BAGGER, D.; SJÖBÄCK, E.; WERSÄLL, W. (1978). Gentamicin induced mitochondrial damage in inner ear sensory cells of the lizard Calotes versicolor. Act. Oto-lar 86:35.
- 7.- BANGHAM, A.D. (1963). Physical structure and behavior of lipid enzymes. Adv. Lipid R. 1:65.

- 8.- BARZA, M.; BROWN, R.B.; SHEN, D. y WEINSTEIN, L. (1975). Predictability of blood levels of gentamicin in man. *J. Infec. - Dis.* 132:165.
- 9.- BEAVER, D.L.; MOSES, H.L. y GANOTE, C.E. (1965). Electron microscopy of the trigeminal ganglion. II. Autopsy study of human ganglia. *Arch. Path.* 79:557.
- 10.- BENDUSH, C.L.; WEBER, R. (1976). Tobramycin sulfate: a summary of worldwide experience from clinical trials. *J. Infec. Dis.* 134:S219.
- 11.- BENNER, E.J.; KRANHOLD, J. y BUSH, W. (1974). Tobramycin: in vitro activity, dosage nomogram derived from renal handling and clinical efficacy. In. *Tobramycin: Selected Proceedings From the Eighth International Congress of Chemotherapy - Athens, 1973.* Excerpta Medica, Amsterdam.
- 12.- BERNARD, B.S.; GARCIA, J.; BALLARD, C.A.; IVIER, D.; THRUPP, L.D.; MATHIES, A.W. y WEHRLE, P.F. (1973). Tobramycin: Maternal-fetal pharmacology. *Pediat. Res.* 7:318.
- 13.- BLACK, J. CALESNICK, B.; WILLIAMS, D. y WEINSTEIN, W. J. (1964). Pharmacology of gentamicin a new H-1 broad-spectrum antibiotic. *Antim. Ag. Ch.* 138:47.
- 14.- BOBROW, S.M.; JAFFE, E. y YOUNG, R.C. (1972). Anuria and acute tubular necrosis associated with gentamicin and cephalotin. *J. Am. Med. A.* 222:1546.
- 15.- BOWMAN, R.L.; SILVERBLATT, F.J. y RALOYNIDES, G.J. (1977). Comparison of the nephrotoxicity of netilmicin and gentamicin in rats. *Antim. Ag. Ch.* 12:474.



- 16.- BROGDEN, R.N.; PINDER, R.M.; SAWYER, P.M.; SPEIGHT, T.M. y AVERY, G.S. (1976). Tobramycin: A review of its antibacterial and pharmacokinetic properties and therapeutic use *Drugs* 12:166.
- 17.- BULGER, R.J.; SIDELL, S. y KIRBY, W.M.M. (1963). Laboratory and clinical studies of gentamicin. *Ann. Int. Med.* 59:593.
- 18.- CLARK, J.T.; LIBKE, R.D.; REGAMEY, C. y KIRBY, W.M.M. (1974). Comparative pharmacokinetics of amikacin. *Clin. Phar* 15:610.
- 19.- COBO, R. (1979). Alteraciones Ultraestructurales e Histoquímicas de la hipertrofia renal vicariante de ratas en condiciones de hambre y sed. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Univ. Sevilla.
- 20.- COBO, R.; PIÑERO, J.; ORTIZ, T.; RELIMPIO, A.; AZNAR, J. y LOPEZ-CAMPOS, J.L. (1981). Modificaciones histológicas en riñones de ratas tras la nefrectomía unilateral. *Rev. Clin. Esp.* 160:305.
- 21.- COE, F.L.; KORTY, P. (1967). Protein synthesis during compensatory renal hypertrophy. *Am. J. Path.* 213:1585.
- 22.- CUPPAGE, F.E. y TATE, A. (1967). Repair of the nephron following injury with mercuric chloride. *Am. J. Pathol.* 51:405.
- 23.- CUPPAGE, F.E. y CHIGA, M. (1972). Nuclear and Mitochondrial DNA synthesis in regeneration following acute tubular necrosis of the kidney. *Am. J. Pathol.* 66:62A.
- 24.- CUPPAGE, F.E.; SETTER, K.; SULLIVAN, L.P.; REITZES, E.J.; MELNYKOVYCH, A.O. (1977). Gentamicin nephrotoxicity II. Physiological, biochemical and morphological effects of prolonged. *Virch. Arch. Cell. Pathol* 24:121.

- 25.- CUTL E, R. E.; GYSELYNCK, A. M. ; FLEET, R. y FORREY, A. W. (1972) . Correlation of serum creatinine concentration and gentamicin half-life. J. Am. Med. A. 219:1037.
- 26.- CHAN, R. A.; BENNER, E. J. y HOEPRICH, P. D. (1972). Gentamicin therapy in renal failure: a nomogram for dosage. Ann. Int. Med. 76:773.
- 27.- CHANG, J. C. y REYES, B. (1975). Agranulocytosis associated with gentamicin. J. Am. Med. A. 232:1154.
- 28.- CHARUTIN, A. y FERRIS, E. B. Jr. (1932). Experimental renal insufficiency produced by portial nephrectomy. I. Control Diet. Arch. Int eram. Med. 49:767.
- 29.- CHAU VIN, J. M.; RUDHARDT, M. y BLANCHARD, P. (1978). Le comportement de la gentamicin dans le parenchyme renal. Observations faites chez le rat pendant et après un traitement a doses therapeutiques. Schw. Med. Wo. 108:1020.
- 30.- CHOU, A.; HECHT, R. y WINTERS, R. (1971). Gentamicin carbenicillin penetration into the septic joint. N. Eng. J. Med. 285:178.
- 31.- DAHL GREN, J. H.; ANDERSON, E. T. y HEWITT, E. T. (1975). Gentamicin bloods levels: a guide to nephrotoxicity. Antim. Ag. Ch. 8:58.
- 32.- DE DUVE, C. (1959). Lysosomes a new group of cytoplasmic particles. In subcelular particles. Ronald Press. New York 128
- 33.- DEE, T. H. y KOZIN, F. (1977). Gentamicin and Tobramycin penetration into synovial fluid. Antim. Ag. Ch. 12:548.
- 34.- DELL INGER, P.; MURPHY, T.; BARZA, M.; PINN, V. y WEINST EIN, L. (1976). Effect of cephalothin on renal cortical concent

trations of gentamicin in rat. *Antim. Ag. Ch.* 9:587.

- 35.- DENN, W.M.; MADDOX, D.A.; ROBERTSON, C.R. y BRENNER, B.M. (1974). Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat. VII Response to reduced mass. *Am. J. Physl.* 227:556.
- 36.- DETTLI, L.C. (1974). Drug dosage in patients with renal disease. *Clin. Pharm.* 16:274.
- 37.- DIAZ-FLORES, L.; ORTIZ, G. y SANCHEZ, G. (1974). *Bases Ultraestructurales en Citología, Histología y Anatomía Patológica*. Ed. Paredes. Santiago de Compostela.
- 38.- DIAZ-FLORES, L. (1977). *Lecciones de Citología*. Ed. Jubertas. Granada.
- 39.- DOW, D. (1970). Control of mitochondrial swelling by Mg. The relation of ion transport to structural changes. *Bioenergetics* 1:247.
- 40.- DUBUY, H.G. y SHOWACRE, J.L. (1961). Selective localization of tetracycline in mitochondria of living cells. *Science* 133:196.
- 41.- DURAND, A.M.A.; FISHER, M. y ADAMS, M. (1964). Histology in rats as influenced by age and diet. *Arch. Path.* 77:268.
- 42.- DUVAL, A.J. y WERSALL, J. (1964). Site of action of streptomycin upon inner ear sensory cells. *Act. Oto-Lar.* 57:581.
- 43.- EDWARDS, C.Q.; SMITH, C.R.; BAUGHMAN, K.L.; ROGERS, J.F. y LIETMAN, P.S. (1976). Concentrations of gentamicin and amikacin in human kidneys. *Antim. Ag. Ch.* 9:925.
- 44.- EICKHOFF, T.C. (1975). New antibacterial treatment of nosocomial infections. *B. N. Y. Ac. Med.* 51:1056.
- 45.- EICKHOFF, T.C. y EHRET, J.M. (1977). In vitro activity of

- netilmicin compared with gentamicin, tobramycin, Amikacin and kanamycin. *Antim. Ag. Ch.* 11:791.
- 46.- ERICSON, J.L.E. (1969). Electron microscopy of renal tubular degeneration. *Meth. Ach. Ex.* 4:171.
- 47.- FABRE, J.; RUDHART, M.; BLANCHARD, P. y REGAMEY, C. (1976). Persistence of sisomicin and gentamicin in renal cortex and medulla compared with other organs and serum of rats. *Kidney Int.* 10:444.
- 48.- FALCO, F.G.; SMITH, H.M. y ARCIERI, G.M. (1969). Nephrotoxicity of aminoglycosides and gentamicin. *J. Infec. Dis.* 119:408.
- 49.- FEDERSPIEL, P. (1969). Histological Investigations of the ototoxicity of gentamicin and tobramycin. *Arznei-Forsch.* 23:1739.
- 50.- FILLASTRE, J.P.; MOREL-MAROGER, L.; MIGNON, F. y MEYER, J.P. (1969). Les néphropathies aiguës médicamenteuses. *Actualités néphrologiques de l'Hôpital Necker*, 155. Flammarion, Paris.
- 51.- FINLAND, M. (1970). Changing ecology of bacterial infections as related to antibacterial therapy. *J. Infec. Dis.* 122:419.
- 52.- FLANDER, O. y DAMON, M. (1967). Experimental study of the nephrotoxicity in rats. In: *Gentamicin. First International Symposium Basel*, Schwabe and Co, 47.
- 53.- FRAME, P.; BANNISTER, T.; TAN, J. y PHAIR, J. (1973). Gentamicin in kinetics and nephrotoxicity in rabbits. *Clin. Res.* 21: 842.
- 54.- FRIEDMANN, I. y BIRD, E.S. (1961). The effect on ototoxic antibiotics and of penicillin on the sensory areas of the isolated

- fowl embryo otocyst in organ cultures: An electron microscope study. J. Pathol. Bact. 81:81.
- 55.- GILBERT, D.N.; HOUGHTON, D.C.; BENNETT, W.M.; PLAMP C.E.; REGER, K. y PORTER, G.A. (1979). Reversibility of gentamicin nephrotoxicity in rats: recovery during continuous drug administration. P. Soc. Exp. M. 160:99
  - 56.- GINGELL, J.C. y WATERWORTH, P.M. (1968). Dose of gentamicin in patients with normal renal function and renal impairment. Br. Med. J. ii:19.
  - 57.- GIUSTI, D.L. y HAYTON, W.L. (1973). Dosage regimen adjustments in renal impairment. Drug Intel. 7:382.
  - 58.- GLAVERT, A.M.; ROGERS, G.E. y GLAVERT, R.H. (1956). A new embedding medium for electron microscopy. Nature - 178:803.
  - 59.- GLAVERT, A.M. y GLAVERT, R.H. (1958). Araldite as an embedding medium for electron microscopy. J. Biophys. Biochem. Cytol. 4:191.
  - 60.- GRAY, J.E.; PURMALIS, A.; PURMALIS, B. y MATHEWS, J. (1971). Ultrastructural studies of the hepatic changes brought about by clindamycin and erythromycin in animals. Tox. Appl. Ph. 19: 217.
  - 61.- GUTTMAN, P.H. y KOHN, H.I. (1960). Progressive intercapillary glomerulosclerosis in the mouse, rat, chine hamster, associated with agiry and X-ray exposure. Am. J. Pathol. 37: 293.
  - 62.- HAHN, F. E. y SARRE, S.G. (1969). Mechanism of action of gentamicin. J. Infec. Dis. 119:364.

- 63.- HALE, A. J. (1956). The Histochemistry of polisaccharides. Int. Rev. Cyt. 6:193.
- 64.- HALLIBURTON, C. W. y THOMSON, R. Y. (1965). Chemical aspects of compensatory renal hypertrophy. Cancer Res. 25: 1882.
- 65.- HAM, A. W. (1975). Tratado de Histología. Ed. Interamer. Mexico.
- 66.- HANSEN, O. (1956). The effect of bacitracin on renal function in mice. Act. Pat. S.A. 111:121.
- 67.- HANSTEN, P. D. (1973). Cephalothin, gentamicin, colistin hazards. J. Am. Med. A. 223:1158.
- 68.- HEWITT, W. L. (1974). Gentamicin: toxicity in perspective. Postg. Med. J. 50:55.
- 69.- HOFFMAN, R. P. y MOOD, D. W. (1977). Impaired renal function secondary to gentamicin-identifying the special risk patient Drug Intel. 11:134.
- 70.- HOLTZMAN, J. L. (1976). Gentamicin and neuromuscular blockade. Ann. Int. Med. 84:55.
- 71.- HOUANG, E. T. y MCKAY-FERGUSON, E. (1976). Activities of tobramycin and amikacin against gentamicin resistant gram negative bacilli. Lancet 1:423.
- 72.- HOUGHTON, D. C.; HARTNETT, M.; CAMPBELL-BOSWELL, M.; PORTER, G. y BENNETT, W. (1976). A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats. Am. J. Pathol. 82:589.
- 73.- HOWELL, N.; ZUICHES, C. A. y MUNKRES, K. D. (1971). Mitochondrial biogenesis in Neurospora crassa. An ultrastructural

and biochemical investigation of the effects of anaerobiosis and chloramphenicol inhibition. J. Cell. Biol. 50:721.

- 74.- HRUBAN, Z.; SPARGO, B.; SWIFT, H. y KLEINFELD, R. G. (1963). Focal cytoplasmic degradation. Am. J. Pathol. 42:657.
- 75.- IGARASHI, M.; LUNDQUIST, G.; ALFORD, B. R. y MIYATA, H. (1971). Experimental ototoxicity of gentamicin in squirrel monkeys. J. Infec. Dis. 124:114.
- 76.- IREY, N. S. (1976). Tissue reactions to drugs. Am. J. Path. 82:3.
- 77.- JACKSON, G. G. (1967). Current therapeutics. CCXXXIV. Gentamicin. Practitioner 198:855.
- 78.- JACKSON, G. G. y ARCIERI, G. (1971). Ototoxicity of gentamicin in man: a survey and controlled analysis of clinical experience in the United States. J. Infec. Dis. 124:S130.
- 79.- JANIGAN, D. T. y SANTAMARIA, A. A. (1961). A histochemical study of swelling and vacuolation of proximal tubular cells in sucrose nephrosis in the rat. Am. J. Pathol. 39:175.
- 80.- JAO, R. L. y JACKSON, G. G. (1964). Gentamicin sulphate new antibiotic against gram negative bacilli. Laboratory, pharmacological and clinical evaluation. J. Am. Med. A. 189:184.
- 81.- KAHL METER, G. y KAMME, C. (1975). Prolonged excretion on gentamicin in a patient with unimpaired renal function. The Lancet i:286.
- 82.- KAHL METER, G.; JONSSON, S. y KAMME, C. (1978). Long-standing post-therapeutic concentrations in patients with unimpaired renal function. A pharmacokinetic evaluation. Antim. J. 4:143.

- 83.- KAHN, T. y STEIN, R.M. (1972). Gentamicin and renal failure. *Lancet* 1:498.
- 84.- KARCH, F. y LASACNA, L. (1974). Adverse drug reactions in the United States. Washington, D.C. Medicine in the public interest. Inc.
- 85.- KAUFMAN, J.M.; DIMEOLA, H.J.; SIEGEL, N.J.; LYTTON, B KASHGARIAN, M. y HAYSLETT, J.P. (1974). Compensatory adaptation of structure and function following progressive renal ablation. *Kidney Int.* 6:10.
- 86.- KAYE, D.; LEVISON, M.E. y LABOVITZ, E.D. (1974). The unpredictability of serum concentrations of gentamicin: pharmacokinetics of gentamicin in patients with normal and abnormal renal function. *J. Infec. Dis.* 130:150.
- 87.- KEMPEZINSKI, R.F. y CAULFIELD, J.B. (1968). A light and electron microscopic study of renal tubular regeneration. *Nephron* 5:249.
- 88.- KIRBY, W.M.M. y SANDIFORD, H.C. (1969). Gentamicin: in vitro studies. *J. Infec. Dis.* 119:361.
- 89.- KIRKMAN, H. y STONELL, R.E. (1942). Renal filtration surface in the albino rat. *Anat. Rec.* 83:373.
- 90.- KLEEMAN, C.R. y MAXWELL, M.H. (1960). The nephrotoxicity of antibiotics: a review. *En Biology of Pyelonephritis* 43:631. (Quinn, E.L. y Kass, E.H. Eds). Little Brown. Boston.
- 91.- KLEIN, J.O.; EICKHOFF, T.C. y FINLAND, M. (1964). Gentamicin: activity in vitro and observations in 26 patients. *Am. J. Med. Sc.* 248:528.
- 92.- KLEIN, J.O.; HERSCHEL, M.; THEREKAN, R.M. y INGALL,



- D. (1971) Gentamicin in serious neonatal infections: absorption excretion, and clinical results in 25 cases. *J. Infec. Dis.* 248:528.
- 93.- KLEINKNECHT, D.; GANEVAL, D. y DROZ, D. (1973). Acute renal failure after high doses of gentamicin and cephalothin. *Lancet* i:1129.
- 94.- KNIGHT, R.; BUELL, J.; KALABA, R.; ROCKWELL, R. y JELLIFFE, R. W. (1970). Computer-assisted kanamycin dose programs. *Clin. Res.* 18:137.
- 95.- KOMISHI, F. y BRANER, R. W. (1962). Renal hypertrophy and function in awadiates nephrectomized rats fed a high protein diet. *Am. J. Physl.* 202-88.
- 96.- KOSEK, J. C.; MAZZE, R. I. y COUSINS, M. J. (1974). Nephrotoxicity of gentamicin. *Lab. Inv.* 30:48.
- 97.- KUNIN, C. M. (1967). A guide to use of antibiotics in patients with renal disease. A table of recommended doses and factors governing serum levels. *Ann. Int. Med.* 67:151.
- 98.- KURTZ, S. M. y FELDMAN, J. D. (1962). Morphologic studies of the normal and injured rat kidney following protein overload. *Lab. Inv.* 11:167.
- 99.- LABOVITZ, E.; LEVINSON, M. E. y KAYE, D. (1964). Single-dose daily gentamicin therapy in urinary tract infection. *Antim. Ag. Ch.* 6:465.
- 100.- LEHNINGER, A. L. (1962). Water uptake and extrusion by mitochondria in relation to oxidative phosphorylation. *Physiol. Rev.* 42:467.
- 101.- LENK, R. y PENMAN, S. (1971). Morphological studies of --

- of cells grown in the absence of mitochondrial specific protein synthesis. J. Cell Biol. 49:541.
- 102.- LEV, R. y SPICER, S.S. (1964). Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. J. Hist. Cyto. 12:309.
  - 103.- LINDQUIST, R.R. y FELLERS, F.X. (1966). Degraded tetracycline nephropathy. Functional, morphologic and histochemical observations. Lab. Inv. 15:864.
  - 104.- LOPEZ-CAMPOS, J.L. (1974). Estudio del retículo intraglomerular y el comportamiento de la tasa de la Alexina en las nefritis experimentales. Rev. Clin. Esp. 95
  - 105.- LUFT, F.C. y KLEIT, S.A. (1974). Renal parenchymal accumulation of aminoglycoside antibiotics in rats. J. Infec. Dis. 130:656.
  - 106.- LUFT, F.C.; PATEL, V.; YUM, M.N.; PATEL, B. y KLEIT, S.A. (1975). Experimental aminoglycoside nephrotoxicity. J. - La. Cl. Med. 86:213.
  - 107.- LUFT, F.C.; YUM, M.N. y KLEIT, S.A. (1976). Comparative nephrotoxicities of netilmicin and gentamicin in rats. Antim. Ag. Ch. 10:845.
  - 108.- LUNDQUIST, P.G. y WERSALL, J. (1966). Kanamycin-induced changes in cochlear hair cells of guinea pig. Z. Zellforsch. 72:543.
  - 109.- LUNDQUIST, P.G. (1967). The ototoxic effect of gentamicin an electron microscopical study. In gentamicin. First International Symposium. Paris, 26.
  - 110.- MANDEL, P.L. y JACOB, M. (1950). Etude biochimique de l'hypertrophie renale compensatrice au cours de jeune protéig-

ne compt renal. Soc. Biol. 144:1548.

- 111.- MARSH, D.C. Jr.; MATTHEW, E.B. y PERSELLIN, R.A. -  
(1974). Transport of gentamicin into synovial fluid. J. Am. -  
Med. A. 228:607.
- 112.- MARTIN, C.M.; IRUKI, N.S.; ZIMMERMAN, J. y WAITZ, J.A.  
(1971). A virulent nosocomial klebsiella with a transferable R  
factor for gentamicin: emergence and suppression. J. Infec.  
Dis. 124:S24.
- 113.- MAWER, G.E.; AHMAD, R.; DOBBS, S.M.; MCGOUGH, J.C. ;  
LUCAS, S.B. y TOOTH, J.A. (1974). Prescribing aids for gen-  
tamicin. Br. J. Cl. Ph. 1:45.
- 114.- MAWER, G.E. (1975). Nomograms for antibiotic dosage in adul  
Adv. Drug Reac. B. 52:176.
- 115.- McHENRY, M.C.; GAVAN, T.L.; GIFFORD JR, R.W.; GEUR-  
KINK, R.W.; VAN OMMER, R.A.; TOWN, M.A. y WAGNER, J.  
G. (1971). Gentamicin dosage for renal insufficiency. Adjust-  
ments based on endogenous creatinine clearance and serum -  
creatinine concentration. Ann. Int. Med. 74:192.
- 116.- McMANUS, J.F.A. y NOWRY, R.W. (1968). Técnicas Histoló-  
gicas. Atika. S.A. Madrid.
- 117.- MEERSON, F.L.; SIMONYAN, N.A.; BAZARDZAYAN, M y -  
LEIKINA, E.M. (1965). Influence of inhibitor and stimulator of  
nucl eic acid synthesis on the developement of compensatory hy-  
pertrophy and function of the single kidney. Dop. Ukr. A. 6:  
1409 .
- 118.- MELBY, E.C. y ALTMAN, N.H. (1976). Handbook of Laborato-  
ry Animal Science. C.R.C. Press. Cleveland. Ohio.

- 119.- MEYERS, B.R. y HIRSCHMAN, S.Z. (1972). Pharmacologic studies on tobramycin and comparison with gentamicin. J. Cl. Pharm. N. D. 12:321.
- 120.- MILLER, G.H.; ARCIERI, G.; WEINTEIN, M.J. y WAITZ, J.A. (1976). Biological activity of netilmicin, a broad-spectrum semisynthetic aminoglycoside antibiotic. Antim. Ag. Ch. 10:827.
- 121.- MILMAN, N. (1975). Renal failure associated with gentamicin therapy. Act. Med. Sc. 196:87.
- 122.- MORRISON, A.B. y HOWARD, R.M. (1966). The functional capacity of hypertrophied nephrons: effect of partial nephrectomy on the clearance of inulin and PAH in the rat. J. Exp. Med. 123:829.
- 123.- MURRAY, R.M.; LAWSON, D.H. y LINTON, A.L. (1971). Analgesic Nephropathy clinical syndrome and prognosis. Br. Med. J. 50:479.
- 124.- NELSON, J.D. (1971). Antibiotic concentrations in septic joint effusions. N. Eng. J. Med. 284:349.
- 125.- NEU, H.C. (1976). An overview. J. Infec. Dis. 134:S3
- 126.- NIESSING, K. (1944). Untersuchungen an kompensatorischen Hypertrophia der Niere. Anat. Anz. 95:31.
- 127.- NOONE, P. y PATTISON, J.R. (1974). The effective use of gentamicin in life-threatening sepsis. Postgr. Med. 50:9.
- 128.- NOONE, P.; PATTISON, J.R. y SHAFI, M.S. (1973). Acute renal failure after high doses of gentamicin and cephalothin. Lancet i:1387.
- 129.- O'BRIAN, J.S.; OKADA, S.; HO, M.W.; FILLERUD, D.L.; VEATH, L. y ADAMS, K. (1971). Ganglioside storage diseases.

In Lipid Storage Diseases. Ed. by Bernsohn, J. y Grosman, H. J., pp. 225. Academic Press. New York.

- 130.- OLIVA ALDAMIZ, H.; NAVARRO BARASTEGUI, V. y JIMENEZ DIAZ, G. (1963). La fina estructura del riñón demostrada con el Microscopio electrónico. Rev. Clin. Esp. 91:340.
- 131.- OLIVER, J. (1915). The histogenesis of chronic uranium nephritis with especial reference to epithelial regeneration. J. Exp. Med. 21:425.
- 132.- OLIVER, J. (1953). Correlations of structure and function and mechanism of recovery in acute tubular necrosis. Am. J. Med. 15:535.
- 133.- ORMOS, J.; ELEMER, G. y CSAPO, Z. (1973). Ultrastructure of the of the proximal convoluted tubules during repair following hormonally induced necrosis in rat kidney. Virch. Arch. B. 13:1.
- 134.- PALADE, G. E. (1952). The fine structure of mitochondria. Anat. Rec. 114:427.
- 135.- PALADE, G. E. (1953). An electron microscope study of the mitochondrial structure. J. Hist. Cyto. 1:188.
- 136.- PARKER, R. H. y SCHMID, F. R. (1971). Antibacterial activity of synovial fluid during therapy of septic arthritis. Arth. -- Rheum 14:96.
- 137.- PERL, P. (1883). Anatomische Studien über compensatorischen Nieren Hypertrophie. Virch. Arch. B 80; 305.
- 138.- PRICE, K. E.; GODFREY, J. C. y KAWAGUCHI, H. (1974). Effect of structural modifications on the biological properties of aminoglycoside antibiotics containing 2 deoxytreptomine. Adv. Appl. Mi. 18:191.

- 139.- RAAB, W. y MOERTH, C. (1976). Renal effects of gentamicin and cephaloridine: evaluation by renal enzyme excretion studies in rats and comparison with other antibiotics. *Arznei-Fors* 26: 377.
- 140.- RAHAL, J. J. Jr.; SEMBERKOFF, M. S. y MOLODVER, N. H. (1976). Bactericidal efficacy of Sch 20569 and amikacin against gentamicin-sensitive and resistant organisms. *Antim. Ag. Ch.* 9:595.
- 141.- REGAMEY, C.; GORDON, R. C. y KIRBY, W. M. M. (1973). Comparative pharmacokinetics of tobramycin and gentamicin. *Clin. Pharm.* 14:396.
- 142.- REVEL, J. P.; ITO, S. y FAWCETT, D. W. (1958). Electron micrographs of myelin figures of phospholipide simulating intracellular membranes. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4:495.
- 143.- REVILLE, P. H. y STEPHAM, F. (1976). Excretion de l. eau du sodium et du potassium au cours de l. hypertrophie renale compensatrice chez la rat hypothyroïdisme. *Comp. R. Societ. Biol.* 170:1015.
- 144.- REYNOLDS, A. V.; HAMILTON-MILLER, J. M. T. y BRUMFITT, W. (1974). Newer aminoglycosides-amikacin and tobramycin: an vitro comparison with kanamycin and gentamicin. *Br. Med. J.* 3:778.
- 145.- RHODIN, J. (1954). Correlation of Ultrastructural organization and function in normal and experimentally change proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney. *Kanolska Institutet. Aktiebolaget godvil. Stockholm.*
- 146.- RHODIN, J. (1958). Anatomy of the kidney tubules. *Int. Rev.*

Cyt. 7: 485.

- 147.- RHODIN, J. (1963). An Atlas of Ultrastructure. W.B. Saunders. Philadelphia.
- 148.- RIBBERT, H. (1882). Uber compensatorische Hypertrophie der Niere. Vich. Arc. Arc. 88, 102:11.
- 149.- ROBBINS, S.L. (1975). Patología estructural y funcional. 3ª ed. Ed. Interamericana, 253. Mexico.
- 150.- ROBERTIS, E.D.P.; SAEZ, F.A. y ROBERTIS, E.M.F. (1975) Cell Biology 6ª ed. Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto.
- 151.- RONALD, A.R.; SILVERBLATT, F.; CLARK, H.; CUTLE, R. E. y TURCH, M. (1971). Failure of urinary beta glucuronidasa activity to localize the site of urinary tract infection. Appl. Microb. 21:990.
- 152.- ROSEN, V.J. (1968). Ultrastructural studies of X-ray induced glomerular disease in rate subjected to uninephrectomy and food restriction. Lab. Inv. 18:260.
- 153.- RUILOPEZ, L.M.; TORRES, A.; HERNANDO, L. y ALES, J.M. (1974). Estudio comparativo de la nefrotoxicidad de la gentamicina con la administración constante e intermitente del antibiótico. Rev. Clin. Esp. 133:119.
- 154.- SABALLS, P. (1980). Toxicidad de los antibióticos. J.A.N.O. 417:39.
- 155.- SACTOR, B. y SHIMADA, Y. (1972). Degenerative changes in the mitochondria of flight muscle from aging blow flies. J. Cell. Biol. 52:465.
- 156.- SAWCHUCK, R.J.; ZASKE, D.E.; CIPOLLE, R.J.; WARGIN,

- W.A. y STRATE, P.G. (1976). Kinetic model for gentamicin dosing with the use of individual patient parameters. Clin. Pha 21:362.
- 157.- SAXTON, J.A. y KIMBALL, G.C. (1941). Relation of nephrosis and other disease af albino rats to age and modifications of diet. Arch. Path. 32:951.
- 158.- SCHENTAG, J.J.; ABRUTYN, E. y JUSKO, W.J. (1976). Pharmacokinetic characterization of gentamicin accumulation in - man. Clin. Pharm. 19:114.
- 159.- SCHERING CORPORATION (1975). Investigational brochure in formatorial material for the investigational drug Sch 20569. Schering Corp. Bloomfield, N.J.
- 160.- SHIMIZU, K. (1967). Clinical experience with gentamicin injectable. In Gentamicin First International Symposium pg.84. Schwabe Basel.
- 161.- SCHUMACHER, G.E. (1973). Practical pharmacokinetic tecni ques for drug consultation and evaluation II. A perspective on the renal impaired patient. Am. J. Hosp. P. 30:824.
- 162.- SENSI, M.; POZIILLI, P. y CATTELL, W.R. (1980). Gentamicin nephrotoxicity in experimental acute renal failure. Act. Therap. 6:65.
- 163.- SETIA, U. y GROSS, P.A. (1976). Administration of tobramycin and gentamicin by the intravenous route every 6 hours in patients with normal renal function. J. Infec. Dis. 134:S125.
- 164.- SHEA, M.S.; RASKOVOR, J. y MORRISON, A. (1978). A stereologic study of glomerular. Hypertrophy in the subtotally nephrectomized rat. Am. J. Pathol. 90:201.



- 165.- SHUIMAMURA, T. y MORRISON, A. B. (1975). A progressive glomerulosclerosis occurring in partial five sixths nephrectomized rat. *Am. J. Pathol.* 79:96.
- 166.- SHORT, E. I. (1952). Mechanism of methionine protection -- against the nephrotoxicity of polymixin A. *Br. J. Pharm.* 7: 248.
- 167.- SIBER, G. R.; ECHEVERRIA, P.; SMITH, A.; PAISLEY, J. W. y SMITH, D. H. (1975). Pharmacokinetics of gentamicin in children and adults. *J. Infec. Dis.* 132:637.
- 168.- SIEGEL, F. L. y BULGAR, R. E. (1975). Scanning and transmission electron microscopy of mercuric chloride-induced acute tubular necrosis in rat kidney. *Virch. Arch. B.* 18:243.
- 169.- SJOSTRAND, F. S. (1953). Electron microscopy of mitochondrial and cytoplasmic double membranes. *Nature* 171:30.
- 170.- SMITH, D. H.; VAN OTTO, B. y SMITH, A. L. (1972). A rapid chemical assay for gentamicin. *N. Eng. Med.* 286:583.
- 171.- SPEIRS, C. F. (1976). Tobramycin side effects international results. *Scot. Med. J.* 21:78.
- 172.- SPOENDLIN, H. (1966). Zur Ototoxizität des Streptomizins. *Prac. Oto-Lar.* 28:305.
- 173.- STERN, J. (1972). The induction of ganglioside storage in nervous system cultures. *Lab. Inv.* 26:509.
- 174.- TAYLOR, N. S. (1965). Histochemical studies of nephrotoxicity with sublethal doses of mercury in rats. *Am. J. Pathol.* 46:1.
- 175.- TERRY, R. D. (1971). The lipid storage body-morphology and clinical considerations. In *Lipid Storage Diseases*, ed. Bernsohn, J. and Grossman, H. J. pp3. Academic Press. New York.

- 176.- TJERNSTROM, O.; BANCK, G.; BELFRAGE, S.; JUHLIN, I.; NORDSTROM, L. y TAREMALM, N.G. (1973). The ototoxicity of gentamicin. *Act. Pat. S.B.* 81:73.
- 177.- TRUMP, B.F. y BENEDITT, E.P. (1962). Electron microscopic studies of human renal disease. *Lab. Inv.* 11:753.
- 178.- VALDIVIESO, M.; FELD, R.; RODRIGUEZ, V. y BODEY, G.P. (1975). Amikacin therapy of infections in neurotropic patients. *Am. J. Med. Sc.* 270:453.
- 179.- VANCURA, P.; MILLER, W.L.; LITTLE, J.M. y WALT, R.A. (1970). Contribution of glomerular and tubular RNA, syarteris to compensatory renal growth. *Am. J. Physiol* 219:78.
- 180.- VERA-ROMAN, J.; KRISHNAKANTNA, T.P.; CUPPAGE, F.E. (1975). Gentamicin nephrotoxicity in rats. I. Acute biochemical and ultrastructural effects. *Lab. Inv.* 33:412.
- 181.- WACHSTEIN, M. (1947). Nephrotoxic action of dl-serine in the rat. I. The localization of the renal damage the phosphatase activity and the influence of age, sex, time, and dose. *Arch. Path* 43:503.
- 182.- WALHIG, H. (1973). Animal studies on tissue concentrations of gentamicin. In *Proc. 8th. Int. Congr. Chemother. Athens Abstract A-74*.
- 183.- WALKER, F. (1973). The origin turnover removal of glomerular basement membrane. *J. Pathology* 110:233.
- 184.- WARREN, R.E. y ROBERTS, O.B. (1976). Gentamicin resistant staphylococci. *Lancet* 1:543.
- 185.- WHELTON, A.; CARTER, G.G.; BRYANT, H.H.; FOX, L. y WALKER, W.G. (1976). Therapeutic implications of gentamicin accumulation in severely diseased kidney. *Arch, Int. Med.*

136:172.

- 186.- WEINSTEIN, M.J.; LUEDEMANN, G.M.; ODEN, E.M. y WAGMAN, G. H. (1963). Gentamicin, a new broad spectrum antibiotic complex. *Antim. Ag. Ch.* 1.
- 187.- WELLES, J.S.; EMMERSON, J.L.; GIBSON, W.R.; NICKANDER, R.; OWEN, N.V. y ANDERSON, R.C. (1973). Preclinical toxicology studies with tobramycin. *Tox. Appl. Ph.* 85: 398.
- 188.- WELLWOOD, J.M.; SIMPSON, P.M.; SIGHE, J.R. y THOMPSON, A.E. (1975). Evidence of gentamicin nephrotoxicity in patients with renal allografts. *Br. Med. J.* iii:278.
- 189.- WEN, S.F.; WONG, L.M.; EVANSON, R.L.; LOCKHART, E. A. y DIRKS, J.H. (1976). Electrolyte transport in remant kidney of the dog effect of furosemide. *Am. J. Physiol.* 230:1231
- 190.- WERSÄLL, J. (1956). Studies of the structure and innervation of the sensory epithelium of the cristae ampullares in the guinea pig. *Act. Oto-Lar* 126:1.
- 191.- WERSÄLL, J. y HAWKINS, J.E. (1962). The vestibular sensory epithelia in the cat labyrinth and their reactions in chronic streptomycin intoxication. *Act. Oto-Lar.* 54:1.
- 192.- WERSÄLL, J. y FLOCK, A. (1964). The effect of gentamicin on single unit activity in the lateral line organ. *Life Sci.* 3: 1151.
- 193.- WERSÄLL, J.; BJÖRKROTH, B. y LUNDQUIST, P.G. (1969). Ototoxicity of gentamicin. *J. Infec. Dis.* 119:410.
- 194.- WERSÄLL, J.; BJÖRKROTH, B.; FLOCK, A. y LUNDQUIST, P.G. (1971). Sensory hair fusion in vestibular sensory cells after gentamicin exposure. *Arch. Kl. Exp.* 200:1.

- 195.- WESTERNFELDER, S.R.; WELLING, G. y MEDSEN, P.O. (1974). Efficacy and pharmacokinetics of tobramycin in patient with chronic urinary tract infection and various degrees of renal impairment. *Infection* 2:76.
- 196.- WILFERT, J.N.; BURKE, J.P.; BLOOMER, H.A.; SMITH, C. B. (1971). Renal insufficiency associated with gentamicin therapy. *J. Infec. Dis.* 124:S148.
- 197.- WILHELM, J. y SACK, K. (1975). Tier experimentelle studie zur frage der nephrotoxizitat von cephalotii und cephalotin-aminoglykosid-kombinationen. *Infection* 3: 89.
- 198.- WRIGHT, J.J. (1975). Synthesis of 1-N-ethyl-sisomicin: a broad-spectrum semi-synthetic aminoglycoside antibiotic. *J. Chem. S. Ch.* 6:206.
- 199.- WYLLIE, A.H.; KERR, J.F.R. y CURRIE, A.R. (1980). Cell death: The significance of apoptosis. *Int. Rev. Cyt.* 68:251.